

COS-7 šūnas | 605470

Vispārīga informācija

Description

COS-7 šūnas ir fibroblastiem līdzīga šūnu līnija, kas iegūta no Āfrikas zaļo pērtiķu nieru audiem, un tās ir svarīgs resurss pētniecībā, jo īpaši to augstās transfekcijas efektivitātes dēļ, kas padara tās par populāru izvēli rekombinantu proteīnu ekspresijai. COS-7 šūnas ir atvasinātas no CV-1 šūnu līnijas un transformētas ar 40. zīdītājvīrusa (SV40) mutantu formu, kas ietver replikācijas sākumu, kas ļauj epizomāli replicēt transficētās plazmīdas, kuras satur SV40 replikācijas sākumu.

COS-7 šūnu transfekciju atvieglo transfekcijas reaģenti, piemēram, Lipofectamine, ar efektivitāti, kas atbilst HeLa šūnām novērotajai. Ar parastajām metodēm COS-7 šūnās var sasniegt līdz pat 80 % transfekcijas efektivitāti, kas liecina par to, ka tās ir viegli ģenētiski manipulējamas. COS-7 šūnu spēja uzņemt lielas plazmīdas un replicēt tās, nodrošinot augstu vēlamu rekombinēto proteīnu iznākumu, padara tās par nenovērtējamu resursu dažādiem lietojumiem, tostarp gēnu ekspresijas pētījumiem, signālu pārnesei ceļu izpētei un proteīnu ražošanai bioķīmiskām analizēm.

COS-7 šūnas ir ļoti uzņēmīgas pret dažādiem vīrusiem, tāpēc tās ir lielisks modelis virusoloģijas pētījumiem, tostarp vīrusa un saimnieka mijiedarbības pētījumiem, vīrusu dzīves cikla noskaidrošanai un pretvīrusu zāļu testēšanai. Tās ir vispiemērotākās vīrusu iekļūšanai un replikācijai, lai pētītu vīrusu infekcijas mehānismus, patogēnēzi un šūnu atbildes reakcijas, ko izraisa vīrusu iebūvēji. Līdz ar to COS-7 šūnas kalpo kā vērtīgs instruments vīrusu vektoru izstrādē gēnu terapijas un vakcīnu pētījumiem.

COS-7 šūnas ir stūrakmens pētniecībā, jo tām ir augsta transfekcijas efektivitāte un lietderība rekombinantu proteīnu ekspresijā. To vieglais ģenētisko manipulāciju vieglums apvienojumā ar uzņēmību pret vīrusiem padara tās neaizstājamas gēnu ekspresijas, signālu pārnesei, virusoloģijas un vīrusu vektoru izstrādes pētījumos, nostiprinot to kā daudzpusīga instrumenta lomu gan fundamentālajās, gan lietišķajās bioloģijas zinātnēs.

Organism Cercopithecus aethiops (zaļais pērtiķis)

Tissue Nieres

Applications Transfekcijas saimnieks. Piemērots transfekcijai ar vektoriem, kam nepieciešama SV40 T antigēna ekspresija.

Synonyms Cos-7, COS7, Cos7, Cos7, CV-1 in Origin Simian-7

Raksturojums

Age Pieaugušo

Gender Vīrieši

Morphology Fibroblastiem līdzīgs

Cell type Fibroblasti

COS-7 šūnas | 605470

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation COS-7 (Cytion kataloga numurs 605470)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9534

CellosaurusAccession CVCL_0224

GMO Status GMO-S1: Šī Āfrikas zaļo pērtiķu nieru izcelsmes šūnu līnija (COS-7) satur replikācijas deficītu SV40 mutāciju pSV6-2, kas ievadīta ar transfekciju, atbalstot imortalizāciju. Konstrukts ir integrēts CV-2 izcelsmes šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citur var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Virus susceptibility SV40 (lītiska augšana), SV40 tsA209 40 °C temperatūrā, SV40 mutanti ar agrīnā reģiona delecijām

Products T antigēns

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

COS-7 šūnas | 605470

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedijiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

COS-7 šūnas | 605470

Flask Coating Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.