

Komórki C127 | 305169**Informacje ogólne****Description**

Komórki C127, pochodzące z mysich tkanek nabłonkowych sutka, są niezbędną linią komórkową ssaków, która stanowi solidną podstawę dla wielu badań biologicznych. Komórki te zostały poddane rygorystycznemu procesowi inżynierii, obejmującemu infekcję specjalnie zaprojektowanymi wirusami, które integrują polimerazę RNA T7 napędzaną przez wirusowy promotor do ich genomu. Elastyczność komórek C127 jest dodatkowo zwiększona przez wprowadzenie dodatkowego rekombinowanego wirusa, który przenosi cDNA regulatora przewodnictwa przezbłonowego mukowiscydozy (CFTR) pod kontrolą promotora T7 lub alternatywnie transfekowanego plazmidu z tym samym promotorem. Taka konfiguracja genetyczna umożliwia precyzyjną kontrolę nad ekspresją białek, dostosowaną do produkcji określonych białek, dzięki czemu komórki C127 są wyjątkowym narzędziem do badań nad ekspresją białek.

Nabłonkowa natura komórek C127, odzwierciedlająca ich pochodzenie z tkanek gruczołu sutkowego, wspiera ich wzrost w sposób przylegający. Wykazują one szybką proliferację i mogą być wykorzystywane do badania procesów komórkowych, wzrostu i różnicowania w różnych warunkach eksperymentalnych. Unikalne modyfikacje genetyczne obecne w tych komórkach sprawiają, że są one idealnym modelem do stabilnych eksperymentów transfekcji komórek, umożliwiając naukowcom wprowadzanie obcego materiału genetycznego i badanie funkcji genów, interakcji białek i konsekwencji modyfikacji genetycznych. Dodatkowo, ich zastosowanie w hodowli komórek 3D jest coraz bardziej doceniane, zapewniając wgląd w interakcje komórka-komórka, morfogenezę tkanek i modelowanie chorób o większym znaczeniu fizjologicznym, rozszerzając tym samym ich użyteczność poza tradycyjne kultury 2D.

Organism	Mysz
Tissue	Gruczoł sutkowy
Disease	Nowotwory złośliwe gruczołu sutkowego myszy
Synonyms	C-127

Charakterystyka

Breed/Subspecies	RIII
Gender	Kobieta
Morphology	Nabłonek
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Komórki C127 | 305169**Citation** C127 (numer katalogowy Cytion 305169)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6550**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki C127 | 305169

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki C127 | 305169

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.