

Células C127 | 305169**Informações gerais****Description**

As células C127, originárias de tecidos epiteliais mamários murinos, são uma linha celular de mamíferos indispensável que estabelece uma base sólida para uma multiplicidade de estudos biológicos. Estas células foram submetidas a um rigoroso processo de engenharia, que envolveu a infecção com vírus especificamente concebidos que integram no seu genoma a polimerase de ARN T7 impulsionada por um promotor viral. A flexibilidade das células C127 é ainda reforçada pela introdução de um vírus recombinante adicional que transporta o cDNA do regulador da condutância transmembranar da fibrose cística (CFTR) sob o controlo de um promotor T7 ou, em alternativa, um plasmídeo transfectado com o mesmo promotor. Esta configuração genética permite um controlo preciso da expressão proteica, adaptado para produzir proteínas específicas, tornando assim as células C127 uma ferramenta excepcional para estudos de expressão proteica.

A natureza epitelial das células C127, que reflecte a sua derivação dos tecidos da glândula mamária, permite o seu crescimento de forma aderente. Apresentam uma proliferação rápida e podem ser utilizadas para analisar os processos celulares, o crescimento e a diferenciação em diversas condições experimentais. As modificações genéticas únicas presentes nestas células tornam-nas um modelo ideal para experiências de transfecção celular estável, permitindo aos investigadores inserir material genético estranho e explorar as funções dos genes, as interações das proteínas e as consequências das modificações genéticas. Além disso, a sua utilização em culturas de células 3D tem sido cada vez mais reconhecida, proporcionando conhecimentos sobre interações célula-célula, morfogénese de tecidos e modelação de doenças com maior relevância fisiológica, alargando assim a sua utilidade para além das tradicionais culturas 2D.

Organism

Rato

Tissue

Glândula mamária

Disease

Neoplasias malignas da glândula mamária do rato

Synonyms

C-127

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

RIII

Gender

Feminino

Morphology

Epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Células C127 | 305169**Citation** C127 (número de catálogo Cytion 305169)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6550**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células C127 | 305169

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células C127 | 305169

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.