

Клетки C2C12 | 400476

Обща информация

Description

Клетъчната линия C2C12, имортилизирана миобластна клетъчна линия на мишка, получена от бедрените мускули на 2-месечна мишка от щама C3H, се използва широко в биомедицинските изследвания заради уникалните си свойства за клетъчна диференциация. Миобластните клетки C2C12 се размножават бързо и проявяват типични миобластни характеристики в условия на високо съдържание на серум. При преминаване към условия с ниско съдържание на серум или при гладуване клетките C2C12 започват миогенна диференциация, превръщайки се в миотуби, които са предшественици на съкратителните клетки на скелетната мускулатура.

Клетките C2C12 лесно приемат екзогенни кДНК и нуклеинови киселини чрез трансфекция, което ги прави добър избор за изследвания на генната експресия и за проучвания на диференциацията на миобластите и миотубите. Процесът на диференциране се характеризира с експресия на миогенни маркери като Myf5, MyoD, Myogenin и Mrf4, както и на специфични за мускулите маркери като Csrp3 и Mef2a, които са от съществено значение при изучаването на различни мускулни фенотипове и регенерацията на скелетната мускулатура.

Уникалната форма на миобластите C2C12 и тяхната трансформация в миобластни клетъчни пръстени и впоследствие в зрели миотуби в среда, допълнена със серум, подчертават динамичната природа на тези клетки и техния потенциал в изследванията на скелетните мускули.

Изследователите използват субстрати като желатинови хидрогелове за клетъчни култури C2C12, за да симулират условията на мускулите *in vivo*, което позволява подробни изследвания на развитието на мускулните клетки и ефектите на извънклетъчния матрикс. Метаболитното профилиране разкрива ключови прозрения за пътищата, участващи в образуването и възстановяването на мускулите, като се фокусира върху основните протеини и ролята на калция в контракцията. Техниките за заглушаване на гени допълнително осветляват процеса на диференциация, като подчертават значението на фосфорилирането на SMAD1 за мускулната регенерация, което е от решаващо значение за разбирането на възстановяването при мускулна загуба и увреждане.

В обобщение, клетъчната линия C2C12 служи като важен инструмент в областта на биомедицинските изследвания, предлагайки универсална платформа за изследване на тънкостите на мускулното формиране, диференцирането, генната експресия и дълбокото въздействие на различни фактори върху клетъчната линия на скелетните мускули, включително ключовата роля на миофиламентите, междинните нишковидни протеини и цялостния организмов контекст, в който се развиват тези клетъчни процеси.

Organism Мишка

Tissue Мускули

Applications Гостоприемник за трансфекция

Synonyms C2c12, C2-C12, C12

Характеристики

Клетки C2C12 | 400476

| | |
|--------------------------|----------------------|
| Breed/Subspecies | СЗН |
| Age | 2 месеца |
| Gender | Жена |
| Morphology | Подобни на миобласти |
| Cell type | Миобласт |
| Growth properties | Придържаци се |

Регулаторни данни

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | C2C12 (каталожен номер на Cytion 400476) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 10090 |
| CellosaurusAccession | CVCL_0188 |

Биомолекулярни данни

Работа с

| | |
|-----------------------------|--|
| Culture Medium | RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a) |
| Supplements | Допълнете средата с 10% FBS |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Doubling time | 24 часа |

Клетки C2C12 | 400476

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm² ще дадат конфулентен слой за около 4 дни

Fluid renewal На всеки 3 до 5 дни

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки C2C12 | 400476

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки C2C12 | 400476

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.