

Buňky C2C12 | 400476

Obecné informace

Description

Buněčná linie C2C12, immortalizovaná myší myoblastová buněčná linie odvozená ze stehenního svalu dvouměsíční myši kmene C3H, je pro své jedinečné diferenciací vlastnosti hojně využívána v biomedicínském výzkumu. Myoblastové buňky C2C12 se rychle množí a vykazují typické vlastnosti myoblastů za podmínek s vysokým obsahem séra. Po přechodu na podmínky s nízkým obsahem séra nebo při hladovění zahájí buňky C2C12 myogenní diferenciaci a přejdou v myotuby, které jsou prekurzory kontraktálních buněk kosterního svalstva.

Buňky C2C12 snadno inkorporují exogenní cDNA a nukleové kyseliny prostřednictvím transfekce, což z nich činí dobrou volbu pro studie genové exprese a výzkum diferenciaci myoblastů a myotub. Proces diferenciaci se vyznačuje expresí myogenních markerů, jako jsou Myf5, MyoD, Myogenin a Mrf4, spolu s markery specifickými pro svaly, jako jsou Csrp3 a Mef2a, které jsou nezbytné při studiu různých svalových fenotypů a regenerace kosterního svalstva.

Jedinečný tvar myoblastů C2C12 a jejich transformace do myoblastových buněčných prstenců a následně do zralých myotub v médiu s přídavkem séra podtrhuje dynamickou povahu těchto buněk a jejich potenciál ve výzkumu kosterního svalstva.

Výzkumníci používají substráty, jako jsou želatinové hydrogely, pro buněčné kultury C2C12, které simulují podmínky ve svalech in vivo, což umožňuje podrobné studie vývoje svalových buněk a vlivu extracelulární matrix. Metabolické profilování odhaluje klíčové poznatky o cestách zapojených do tvorby a obnovy svalů se zaměřením na základní proteiny a roli vápníku při kontrakci. Techniky umlčování genů dále osvětlují proces diferenciaci a zdůrazňují význam fosforylace SMAD1 při regeneraci svalů, což je zásadní pro pochopení regenerace při svalovém chřadnutí a zranění.

Lze shrnout, že buněčná linie C2C12 slouží jako zásadní nástroj v oblasti biomedicínského výzkumu a nabízí univerzální platformu pro zkoumání složitosti tvorby svalů, diferenciaci, genové exprese a hlubokého vlivu různých faktorů na buněčnou linii kosterního svalu, včetně klíčové role myofilament, proteinů intermediárních vláken a celkového kontextu organismu, v němž se tyto buněčné procesy odehrávají.

Organism	Myš
Tissue	Svaly
Applications	Transfekční hostitel
Synonyms	C2c12, C2-C12, C12

Charakteristika

Breed/Subspecies	C3H
Age	2 měsíce

Buňky C2C12 | 400476

Gender	Ženy
Morphology	Myoblastům podobné
Cell type	Myoblast
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	C2C12 (katalogové číslo Cytion 400476)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0188

Biomolekulární data**Zpracování**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr rozdělení 1:3 až 1:5

Buňky C2C12 | 400476

Seeding density 1×10^4 buněk/cm² vytvoří konfluentní vrstvu za přibližně 4 dny.

Fluid renewal Každých 3 až 5 dní

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Buňky C2C12 | 400476**Flask Coating**

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplasmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplasmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolování.

Profil STR

M_18-3: 16
M_4-2: 19,3
M_6-7: 12
M_3-2: 14
M_19-2: 12
M_7-1: 26
M_1-1: 10
M_8-1: 17
M_2-1: 9
M_15-3: 25,3
M_6-4: 18
M_11-2: 16
M_1-2: 16
M_17-2: 15
M_12-1: 16
M_5-5: 15
M_X-1: 25,26
M_13-1: 17
Human D4/D8: -