

C2C12 rakud | 400476

Üldine teave

Description

C2C12 rakuliini, mis on 2 kuu vanuse C3H-tüve hiire reielihasest saadud immortaliseeritud hiire müoblastide rakuliin, kasutatakse laialdaselt biomeditsiinilistes uuringutes selle ainulaadsete rakkude diferentseerumise omaduste tõttu. C2C12 müoblastirakud paljunevad kiiresti ja näitavad kõrge seerumi sisalduse tingimustes tüüpilisi müoblastide omadusi. Kui C2C12 rakud lähevad üle madala seerumi sisalduse tingimustesse või nälgimisele, alustavad nad müogeenset diferentseerumist, muutudes müotuubideks, mis on kontraktiilsete skeletilihasrakkude eelkäijad.

C2C12 rakud võtavad transfektsiooni teel kergesti vastu eksogeenseid cDNAsid ja nukleiinhappeid, mistõttu on nad hea valik geeniekspressiooni uuringuteks ning müoblastide ja müotuubide diferentseerumise uurimiseks. Diferentseerumisprotsessi iseloomustab müogeensete markerite, nagu Myf5, MyoD, Myogenin ja Mrf4, ekspressioon koos lihaspetsiifiliste markeritega, nagu Csrp3 ja Mef2a, mis on olulised erinevate lihaskonotüüpide ja skeletilihaste regenereerimise uurimisel.

C2C12 müoblastide ainulaadne kuju ja nende muundumine müoblastirakkude rõngasteks ja seejärel küpseteks müotuubideks seerumiga täiendatud keskkonnas rõhutab nende rakkude dünaamilist olemust ja nende potentsiaali skeletilihaste uurimisel.

Teadlased kasutavad C2C12 rakukultuuride jaoks selliseid substraate nagu želatiinhüdrogeelid, et simuleerida in vivo lihasingimusi, mis võimaldab üksikasjalikult uurida lihasrakkude arengut ja rakuvälise maatriksi mõju. Metaboolse profiili koostamine annab ülevaate lihaste moodustumise ja taastumise protsessist, keskendudes olulistele valkudele ja kaltsiumi rollile kontraktsioonis. Geenide vaigistamise meetodid valgustavad veelgi diferentseerumisprotsessi, tuues esile SMAD1 fosforüleerimise olulisuse lihaste taastumisel, mis on oluline taastumise mõistmiseks lihaste raikamise ja vigastuste korral.

Kokkuvõttes on C2C12 rakuliin kriitiline vahend biomeditsiiniuuringute valdkonnas, pakkudes mitmekülgset platvormi lihaste moodustumise, diferentseerumise, geeniekspressiooni ja erinevate tegurite sügava mõju uurimiseks skeletilihaste rakuliinile, sealhulgas müofilamentide, vahepealsete filamentide valkude ja üldise organismilise konteksti, milles need rakulised protsessid arenevad, keske tähtsusega rolli uurimiseks.

Organism Hiir

Tissue Lihas

Applications Transfektsiooni peremees

Synonyms C2c12, C2-C12, C12

Omadused

Breed/Subspecies C3H

Age 2 kuud

C2C12 rakud | 400476

Gender	Naised
Morphology	Müoblastilaadsed
Cell type	Myoblast
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	C2C12 (Cytioni katalooginumber 400476)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0188

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 x 10 ⁴ rakku/cm ² moodustab umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.

C2C12 rakud | 400476

Fluid renewal Iga 3 kuni 5 päeva tagant**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakesuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.**Flask Coating**Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovime kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

C2C12 rakud | 400476

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.