

C2C12 sejtek | 400476

Általános információk

Description

A C2C12 sejtvonalat, egy immortalizált egér myoblaszt sejtvonalat, amely a C3H egértörzsbe tartozó, 2 hónapos egerek combizmából származik, széles körben használják az orvosi biológiai kutatásban egyedülálló sejtdifferenciálódási tulajdonságai miatt. A C2C12 myoblast sejtek gyorsan proliferálnak és magas szérumszintű körülmények között tipikus myoblast tulajdonságokat mutatnak. Alacsony szérumszintű körülményekre vagy éhezésre való áttéréskor a C2C12 sejtek myogén differenciálódást indítanak, és myotubusokká alakulnak át, amelyek a kontraktilis vázizomsejtek előfutárai.

A C2C12 sejtek transzfekció révén könnyen felveszik az exogén cDNS-t és nukleinsavakat, így jó választásnak bizonyulnak a génexpressziós vizsgálatokhoz és a myoblastok és myotubusok differenciálódásának vizsgálatához. A differenciálódási folyamatot olyan myogén markerek kifejeződése jelzi, mint a Myf5, MyoD, Myogenin és Mrf4, valamint olyan izomspecifikus markerek, mint a Csrp3 és Mef2a, amelyek elengedhetetlenek a különböző izomfenotípusok és a vázizomzat regenerációjának vizsgálatához.

A C2C12 myoblastok egyedi alakja és szérummal kiegészített közegben történő átalakulásuk myoblaszt sejtgömbökké, majd érett myotubusokká alakulása kiemeli e sejtek dinamikus természetét és a vázizomzat kutatásában rejlő lehetőségeiket.

A kutatók a C2C12 sejtkultúrákhoz olyan szubsztrátokat használnak, mint a zselatinos hidrogélek, hogy szimulálják az in vivo izomkörülményeket, lehetővé téve az izomsejtek fejlődésének és az extracelluláris mátrix hatásainak részletes vizsgálatát. Az anyagcsere-profilok vizsgálata kulcsfontosságú betekintést nyújt az izomképződésben és -helyreállításban részt vevő útvonalakba, az alapvető fehérjékre és a kalcium összehúzóerőben betöltött szerepére összpontosítva. A géncsendesítési technikák tovább világítják meg a differenciálódási folyamatot, kiemelve a SMAD1 foszforiláció jelentőségét az izomregenerációban, ami kulcsfontosságú az izomsorvadás és sérülések esetén a regeneráció megértéséhez.

Összefoglalva, a C2C12 sejtvonal kritikus eszközként szolgál az orvosi biológiai kutatásban, sokoldalú platformot kínálva az izomképződés, a differenciálódás, a génexpresszió és a különböző tényezőknek a vázizomsejtvonalra gyakorolt mélyreható hatásának feltárásához, beleértve a myofilamentumok, az intermedier filamentum fehérjék és az általános szervezeti kontextus kulcsfontosságú szerepét, amelyben ezek a sejtfolyamatok kibontakoznak.

Organism Egér

Tissue Izom

Applications Transzfekciós gazdatest

Synonyms C2c12, C2-C12, C12

Jellemzők

Breed/Subspecies C3H

Age 2 hónap

C2C12 sejtek | 400476

Gender	Női
Morphology	Myoblast-szerű
Cell type	Myoblast
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

C2C12 sejtek | 400476

Seeding density 1×10^4 sejt/cm² körülbelül 4 nap alatt konfluens réteget képez.

Fluid renewal 3-5 naponta

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.

C2C12 sejtek | 400476

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.