

C2C12 ląstelės | 400476**Bendra informacija****Description**

C2C12 ląstelių linija - nemortizuotų pelių mioblastų ląstelių linija, gauta iš dviejų mėnesių amžiaus C3H padermės pelių šlaunies raumenų, plačiai naudojama biomediciniuose tyrimuose dėl savo unikalių ląstelių diferenciacijos savybių. C2C12 mioblastinės ląstelės greitai dauginasi ir pasižymi tipiškomis mioblastų savybėmis esant dideliame serumo kiekiui. Perėjus prie mažo serumo kiekio arba badaujant, C2C12 ląstelės pradeda miogeninę diferenciaciją ir virsta miotubais, kurie yra susitraukiančių skeleto raumenų ląstelių pirmtakai.

C2C12 ląstelės lengvai inkorporuoja egzogenines cDNA ir nukleino rūgštis, todėl jos yra tinkamas pasirinkimas genų raiškos tyrimams ir mioblastų bei miotubų diferenciacijos tyrimams. Diferenciacijos procesą žymi miogeninių žymenų, tokių kaip Myf5, MyoD, Myogenin ir Mrf4, raiška, kartu su raumenims būdingais žymenimis, tokiais kaip Csrp3 ir Mef2a, kurie yra labai svarbūs tiriant įvairius raumenų fenotipus ir skeleto raumenų regeneraciją.

Unikali C2C12 mioblastų forma ir jų transformacija į mioblastų ląstelių žiedus, o vėliau į subrendusius miotubus serumu papildytoje terpėje pabrėžia dinamišką šių ląstelių prigimtį ir jų potencialą skeleto raumenų tyrimuose.

Mokslininkai naudoja tokius substratus kaip želatinos hidrogelius C2C12 ląstelių kultūroms, kad imituotų in vivo raumenų sąlygas, leidžiančias atlikti išsamius raumenų ląstelių vystymosi ir ekstraląstelinio matrikso poveikio tyrimus. Metabolinis profiliavimas atskleidžia svarbiausias įžvalgas apie raumenų formavimosi ir atsistatymo kelius, daugiausia dėmesio skiriant esminiams baltymams ir kalcio vaidmeniui susitraukimo procese. Genų slopinimo metodai dar labiau nušviečia diferenciacijos procesą, išryškindami SMAD1 fosforilinimo reikšmę raumenų regeneracijai, kuri yra labai svarbi norint suprasti atsigavimą raumenų išsekimo ir traumų atvejais.

Apibendrinant galima teigti, kad C2C12 ląstelių linija yra labai svarbi biomedicinių tyrimų priemonė, nes ji yra universali platforma raumenų formavimosi, diferenciacijos, genų raiškos ir įvairių veiksnių poveikio skeleto raumenų ląstelių linijai, įskaitant pagrindinį miofilamentų, tarpinių gijų baltymų vaidmenį ir bendrą organizmo kontekstą, kuriame vyksta šie ląsteliniai procesai, tyrimams.

Organism

Pelė

Tissue

Raumenys

Applications

Transfekcijos šeimininkas

Synonyms

C2c12, C2-C12, C12

Charakteristikos**Breed/Subspecies**

C3H

Age

2 mėnesiai

Gender

Moteris

C2C12 ląstelės | 400476

Morphology | mioblastus panašus**Cell type** Mioblastai**Growth properties** Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation C2C12 (Cytion katalogo numeris 400476)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0188

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 valandos**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 1×10^4 ląstelės/cm² per maždaug 4 dienas sudarys konfluentinį sluoksnį.**Fluid renewal** Kas 3-5 dienas

C2C12 ląstelės | 400476**Post-Thaw Recovery**

Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švari vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolio.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

C2C12 ląstelės | 400476

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.