

C2C12 šūnas | 400476

Vispārīga informācija

Description

C2C12 šūnu līnija, kas ir imortizēta peļu mioblastu šūnu līnija, kas iegūta no C3H peļu celma 2 mēnešus vecu peļu augšstilba muskuļiem, tiek plaši izmantota biomedicīnas pētījumos, pateicoties tās unikālajām šūnu diferenciācijas īpašībām. C2C12 mioblastu šūnas strauji vairojas un tām piemīt tipiskas mioblastu īpašības augsta seruma satura apstākļos. Pārejot uz zema seruma satura apstākļiem vai badu, C2C12 šūnas sāk miogēnisku diferenciāciju, pārvēršoties par miotubulām, kas ir pirmtēvi kontraktilām skeleta muskuļu šūnām.

C2C12 šūnas viegli inkorporē eksogēnu cDNS un nukleīnskābes, izmantojot transfekciju, tāpēc tās ir laba izvēle gēnu ekspresijas pētījumiem un mioblastu un miotubu diferenciācijas izpētei. Diferenciācijas procesu raksturo miogēno marķieru, piemēram, Myf5, MyoD, Myogenin un Mrf4, ekspresija, kā arī muskuļu specifisko marķieru, piemēram, Csrp3 un Mef2a, kas ir būtiski dažādu muskuļu fenotipu un skeleta muskuļu reģenerācijas izpētē.

C2C12 mioblastu unikālā forma un to transformācija par mioblastu šūnu gredzeniem un pēc tam par nobriedušiem miotubuliem seruma papildinātā barotnē uzsver šo šūnu dinamisko dabu un to potenciālu skeleta muskuļu pētniecībā.

Pētnieki C2C12 šūnu kultūrām izmanto tādus substrātus kā želatīna hidrogēli, lai imitētu in vivo muskuļu apstākļus, kas ļauj detalizēti pētīt muskuļu šūnu attīstību un ekstracelulārā matricsa ietekmi. Metaboliskā profilēšana atklāj būtiskas atziņas par muskuļu veidošanā un atjaunošanā iesaistītajiem ceļiem, koncentrējoties uz būtiskiem proteīniem un kalcija lomu kontrakcijā. Gēnu slāpēšanas metodes vēl vairāk izgaismo diferenciācijas procesu, uzsverot SMAD1 fosforilēšanas nozīmi muskuļu reģenerācijā, kas ir ļoti svarīga, lai izprastu atveseļošanas muskuļu novājēšanas un traumu gadījumos.

Kopumā C2C12 šūnu līnija kalpo kā būtisks instruments biomedicīnisko pētījumu jomā, piedāvājot daudzpusīgu platformu muskuļu veidošanās, diferenciācijas, gēnu ekspresijas un dažādu faktoru dziļās ietekmes uz skeleta muskuļu šūnu veidošanos, tostarp miofilamentu, starpfilamentu proteīnu un vispārējā organisma konteksta, kurā norisinās šie šūnu procesi, izpētes sarežģītību.

Organism Pele**Tissue** Muskuļi**Applications** Transfekcijas saimnieks**Synonyms** C2c12, C2-C12, C12

Raksturojums

Breed/Subspecies C3H**Age** 2 mēneši**Gender** Sievietes

C2C12 šūnas | 400476

Morphology Mioblastiem līdzīgs**Cell type** Mioblasti**Growth properties** Adherent

Normatīvie dati

Citation C2C12 (Cytion kataloga numurs 400476)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0188

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 stundas**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaigā barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.**Fluid renewal** Ik pēc 3 līdz 5 dienām

C2C12 šūnas | 400476

Post-Thaw Recovery

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

C2C12 šūnas | 400476

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.