

Komórki C2C12 | 400476

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa C2C12, nieśmiertelna mysia linia komórkowa mioblastów pochodząca z mięśnia uda 2-miesięcznej myszy szczepu C3H, jest szeroko wykorzystywana w badaniach biomedycznych ze względu na jej unikalne właściwości różnicowania komórek. Komórki mioblastów C2C12 proliferują szybko i wykazują typowe cechy mioblastów w warunkach wysokiego stężenia surowicy. Po przejściu do warunków niskiej zawartości surowicy lub głodzenia, komórki C2C12 inicjują różnicowanie miogenne, przekształcając się w miotuby, które są prekursorami kurczliwych komórek mięśni szkieletowych.

Komórki C2C12 łatwo przyjmują egzogenne cDNA i kwasy nukleinowe poprzez transfekcję, co czyni je dobrym wyborem do badań ekspresji genów i badań nad różnicowaniem mioblastów i miotub. Proces różnicowania charakteryzuje się ekspresją markerów miogenicznych, takich jak Myf5, MyoD, Myogenin i Mrf4, wraz z markerami specyficznymi dla mięśni, takimi jak Csrp3 i Mef2a, które są niezbędne w badaniu różnych fenotypów mięśni i regeneracji mięśni szkieletowych.

Unikalny kształt mioblastów C2C12 i ich transformacja w pierścienie komórek mioblastów, a następnie w dojrzałe miotuby w pożywce z dodatkiem surowicy podkreślają dynamiczną naturę tych komórek i ich potencjał w badaniach nad mięśniami szkieletowymi.

Naukowcy wykorzystują podłoża takie jak hydrożele żelatynowe do hodowli komórek C2C12, aby symulować warunki mięśniowe in vivo, umożliwiając szczegółowe badania rozwoju komórek mięśniowych i wpływu macierzy zewnątrzkomórkowej. Profilowanie metaboliczne ujawnia kluczowe informacje na temat szlaków zaangażowanych w tworzenie i regenerację mięśni, koncentrując się na niezbędnych białkach i roli wapnia w skurczu. Techniki wyciszania genów dodatkowo oświetlają proces różnicowania, podkreślając znaczenie fosforylacji SMAD1 w regeneracji mięśni, co ma kluczowe znaczenie dla zrozumienia regeneracji w przypadku zaniku mięśni i urazów.

Podsumowując, linia komórkowa C2C12 służy jako krytyczne narzędzie w dziedzinie badań biomedycznych, oferując wszechstronną platformę do badania zawiłości tworzenia mięśni, różnicowania, ekspresji genów i głębokiego wpływu różnych czynników na linię komórek mięśni szkieletowych, w tym kluczową rolę miofilamentów, białek filamentów pośrednich i ogólnego kontekstu organizmального, w którym rozwijają się te procesy komórkowe.

Organism Mysz

Tissue Mięśnie

Applications Host transfekcji

Synonyms C2c12, C2-C12, C12

Charakterystyka

Breed/Subspecies C3H

Age 2 miesiące

Komórki C2C12 | 400476

Gender	Kobieta
Morphology	Podobne do mioblastów
Cell type	Myoblast
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 godziny
Subculturing	Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek podziału od 1:3 do 1:5

Komórki C2C12 | 400476

Seeding density 1×10^4 komórek/cm² utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.

Fluid renewal Co 3 do 5 dni

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płycie w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki C2C12 | 400476

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki C2C12 | 400476

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: -