

Celice C2C12 | 400476

Splošne informacije

Description

Celična linija C2C12, imortalizirana mišja mioblastna celična linija, pridobljena iz stegenske mišice dvomesečne miši seva C3H, se zaradi svojih edinstvenih lastnosti diferenciacije celic pogosto uporablja v biomedicinskih raziskavah. Mioblastne celice C2C12 se hitro razmnožujejo in imajo tipične značilnosti mioblastov v pogojih z visoko vsebnostjo seruma. Ob prehodu na pogoje z nizko vsebnostjo seruma ali stradanju celice C2C12 začnejo miogeno diferenciacijo in preidejo v miotube, ki so predhodnice krčljivih skeletnih mišičnih celic.

C2C12 celice s transfekcijo zlahka vključijo eksogeno cDNA in nukleinske kisline, zato so dobra izbira za študije izražanja genov in raziskave diferenciacije mioblastov in miotubusov. Proces diferenciacije zaznamuje izražanje miogenih označevalcev, kot so Myf5, MyoD, Myogenin in Mrf4, poleg mišično-specifičnih označevalcev, kot sta Csrp3 in Mef2a, ki so bistveni pri preučevanju različnih mišičnih fenotipov in regeneraciji skeletnih mišic.

Edinstvena oblika mioblastov C2C12 in njihova transformacija v obročje mioblastnih celic ter nato v zrele miotube v mediju, dopolnjenem s serumom, poudarjajo dinamično naravo teh celic in njihov potencial pri raziskavah skeletnih mišic.

Raziskovalci uporabljajo substrate, kot so želatinasti hidrogeli za kulture celic C2C12, da bi simulirali pogoje v mišicah in vivo, kar omogoča podrobne študije razvoja mišičnih celic in učinkov zunajceličnega matriksa. Metabolično profiliranje razkriva ključna spoznanja o poteh, ki so vključene v nastajanje in obnovo mišic, s poudarkom na bistvenih beljakovinah in vlogi kalcija pri krčenju. Tehnike utišanja genov dodatno osvetljujejo proces diferenciacije in poudarjajo pomen fosforilacije SMAD1 pri regeneraciji mišic, kar je ključnega pomena za razumevanje okrevanja pri mišični izčrpanosti in poškodbah.

Če povzamemo, celična linija C2C12 služi kot ključno orodje na področju biomedicinskih raziskav in ponuja vsestransko platformo za raziskovanje zapletenosti nastajanja mišic, diferenciacije, izražanja genov in velikega vpliva različnih dejavnikov na celično linijo skeletnih mišic, vključno s ključno vlogo miofilamentov, proteinov vmesnih filamentov in splošnega konteksta organizma, v katerem se ti celični procesi odvijajo.

Organism Miška

Tissue Mišice

Applications Gostitelj za transfekcijo

Synonyms C2c12, C2-C12, C12

Značilnosti

Breed/Subspecies C3H

Age 2 meseca

Gender Ženske

Celice C2C12 | 400476

Morphology Mioblastom podobni**Cell type** Mioblasti**Growth properties** Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation C2C12 (katalogska številka Cytion 400476)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0188

Biomolekularni podatki

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 1×10^4 celic/cm² bo v približno 4 dneh oblikovalo konfluentno plast.**Fluid renewal** Vsakih 3 do 5 dni

Celice C2C12 | 400476

**Post-Thaw
Recovery**

Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

**Freeze
medium**

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO₂, vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Celice C2C12 | 400476

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.