

C2C12 Hücreleri | 400476**Genel bilgi****Description**

C3H fare türünden 2 aylık bir farenin uyluk kasından elde edilen ölümsüzleştirilmiş bir fare miyoblast hücre hattı olan C2C12 hücre hattı, benzersiz hücre farklılaşma özellikleri nedeniyle biyomedikal araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. C2C12 miyoblast hücreleri yüksek serum koşulları altında hızla çoğalır ve tipik miyoblast özellikleri sergiler. Düşük serum koşullarına veya açlığa geçildiğinde, C2C12 hücreleri miyojenik farklılaşmayı başlatarak kasılabilen iskelet kası hücrelerinin öncüsü olan miyotüplere geçiş yapar.

C2C12 hücreleri, transfeksiyon yoluyla eksojen cDNA ve nükleik asitleri kolayca bünyesine katarak gen ekspresyonu çalışmaları ve miyoblast ve miyotüp farklılaşması araştırmaları için iyi bir seçim haline gelir. Farklılaşma süreci, farklı kas fenotiplerini ve iskelet kası rejenerasyonunu incelemek için gerekli olan Csrp3 ve Mef2a gibi kasa özgü belirteçlerin yanı sıra Myf5, MyoD, Myogenin ve Mrf4 gibi miyojenik belirteçlerin ekspresyonu ile işaretlenir.

C2C12 miyoblastlarının benzersiz şekli ve miyoblast hücre halkalarına ve ardından serumla desteklenen ortamda olgun miyotüplere dönüşmeleri, bu hücrelerin dinamik doğasının ve iskelet kası araştırmalarındaki potansiyellerinin altını çizmektedir.

Araştırmacılar, in vivo kas koşullarını simüle etmek amacıyla C2C12 hücre kültürleri için jelatin hidrojeller gibi substratlar kullanarak kas hücresi gelişimi ve hücre dışı matris etkileri üzerine detaylı çalışmalar yürütmektedir. Metabolik profillemeye, temel proteinlere ve kalsiyumun kasılmadaki rolüne odaklanarak kas oluşumu ve iyileşmesinde yer alan yollara ilişkin önemli bilgiler ortaya koymaktadır. Gen susturma teknikleri, kas rejenerasyonunda SMAD1 fosforilasyonunun önemini vurgulayarak farklılaşma sürecini daha da aydınlatır ve kas kaybı ve yaralanmasında iyileşmeyi anlamak için çok önemlidir.

Özetle, C2C12 hücre hattı, biyomedikal araştırma alanında kritik bir araç olarak hizmet etmekte ve kas oluşumu, farklılaşma, gen ekspresyonu ve miyofilamentlerin, ara filament proteinlerinin ve bu hücresel süreçlerin ortaya çıktığı genel organizma bağlamının önemli rolü de dahil olmak üzere çeşitli faktörlerin iskelet kası hücre soyu üzerindeki derin etkisini araştırmak için çok yönlü bir platform sunmaktadır.

Organism Fare**Tissue** Kas**Applications** Transfeksiyon konağı**Synonyms** C2c12, C2-C12, C12**Özellikler****Breed/Subspecies** C3H**Age** 2 ay**Gender** Kadın

C2C12 Hücreleri | 400476**Morphology** Miyoblast benzeri**Cell type** Miyoblast**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** C2C12 (Cytion katalog numarası 400476)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0188**Biyomoleküler Veriler****Elleçleme****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 saat**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 1×10^4 hücre/cm² yaklaşık 4 gün içinde birleşik bir tabaka oluşturacaktır.**Fluid renewal** Her 3 ila 5 günde bir

C2C12 Hücreleri | 400476

Post-Thaw Recovery

Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

C2C12 Hücreleri | 400476

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.