

C17.2 Rakud | 305354**Üldine teave****Description**

C17.2 rakuliin on neuronaalne progenitorliin, mis on saadud hiire väikeajust, kasutades retroviirusega vahendatud onkogeeni ülekannet koos lindude myc-geeniga. See on üks mitmest liinist, mis on välja töötatud neuronaalsete eellaste diferentseerumispotentsiaali uurimiseks, keskendudes eelkõige neuronite ja gliarakkude liinidele. C17.2 rakkudel on neuronaalsete eellaste põhilised omadused ja nad suudavad sobivatel tingimustel diferentseeruda nii neuronaalseteks kui ka gliarakkudeks, mistõttu on nad väärtuslikud neuronaalse arengu, neurogeneesi ja gliogeneesi uuringutes.

C17.2 üks iseloomulikke omadusi on selle võime diferentseeruda erinevateks neuronaalseks rakutüüpideks, säilitades samal ajal mitotoilise potentsiaali, mis võimaldab pikemat kasvatamist ja eksperimentaalset manipuleerimist. See liin ekspresseerib neuraalsetele tüvi- ja eelkoosseisurakkudele iseloomulikke markereid ning seda saab diferentseerimisprotokollist sõltuvalt diferentseerimisprotokollist sundida ekspresseerima liinispetsiifilisi markereid. C17.2 stabiilsus ja multipotentsus võimaldavad seda kasutada neuronaalsete rakkude põlvnemist mõjutavate tegurite uurimisel ning samuti neuronaalsete taastamise ja regenereerimise uuringutes.

Teadlased kasutavad C17.2 rakke nii in vitro kui ka in vivo kontekstis, et mõista kesknärvisüsteemi (KNS) rakkude saatust kontrollivaid mehhanisme. Lisaks teevad selle liini hästi iseloomustatud geenide integratsioonikohad ja spetsiifiliste neuraalsete markerite järjepidev ekspressioon usaldusväärseks mudeliks neurodegeneratiivsete uuringute läbiviimiseks ja neurodegeneratiivsete haiguste mudelites neuraalsete eellaste võimalike terapeutiliste rollide uurimiseks.

Organism Hiir**Tissue** Aju, väikeaju**Synonyms** C17**Omadused****Breed/Subspecies** C57BL/6 x CD-1**Age** Vastsündinu**Gender** Täpsustamata**Cell type** Neuraalne eelkäijarakk**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed**

C17.2 Rakud | 305354**Citation** C17.2 (Cytioni katalooginumbr 305354)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4511**Biomolekulaarsed andmed****Oncogenes** Transformant: v-Myc**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 2 kuni 4×10^4 rakku/cm²**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbr 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

C17.2 Rakud | 305354**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

C17.2 Rakud | 305354

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.