

C17.2 Solut | 305354

Yleisiä tietoja

Description

C17.2-solulinja on hiiren pikkuaivoista peräisin oleva neuraalinen kantasolulinja, joka on saatu käyttämällä retrovirusvälitteistä onkogeeniinsiirtoa lintujen myc-geenin kanssa. Se on yksi useista linjoista, jotka on kehitetty hermoston esisolujen erilaistumispotentiaalin tutkimiseen, erityisesti keskittyen neuronien ja gliasolujen sukulinjoihin. C17.2-soluilla on neuraalisten kantasolujen keskeisiä ominaisuuksia, ja ne voivat erilaistua sekä hermosoluiksi että gliasoluiksi sopivissa olosuhteissa, mikä tekee niistä arvokkaita hermoston kehitystä, neurogeneesiä ja gliogeneesiä koskevissa tutkimuksissa.

Yksi C17.2-solujen ominaispiirre on sen kyky erilaistua eri hermosolutyypeiksi säilyttäen samalla mitoosipotentiaalin, mikä mahdollistaa pidemmän viljely- ja kokeellisen manipuloinnin. Tämä linja ilmentää neuraalisille kantasoluille ja esisoluille tyypillisiä merkkiaineita, ja se voidaan erilaistamisprotokollasta riippuen saada ilmentämään linjakohtaisia merkkiaineita. C17.2:n stabiilius ja monipotenttisuus mahdollistavat sen käytön hermosolujen linjasitoutumiseen vaikuttavien tekijöiden tutkimisessa sekä sen käytön hermosolujen korjaus- ja uudistamistutkimuksissa.

Tutkijat käyttävät C17.2-soluja sekä in vitro- että in vivo -konteksteissa ymmärtääkseen solujen kohtaloa keskushermostossa (CNS) ohjaavia mekanismeja. Lisäksi linjan hyvin karakterisoidut geenien integroitumiskohdat ja erityisten hermostomarkkereiden johdonmukainen ilmentyminen tekevät siitä luotettavan mallin neurologisia kehitystutkimuksia varten ja hermoston esisolujen mahdollisia terapeuttisia rooleja neurodegeneratiivisten sairauksien malleissa tutkittaessa.

Organism Hiiri

Tissue Aivot, pikkuaivot

Synonyms C17

Ominaisuudet

Breed/Subspecies C57BL/6 x CD-1

Age Vastasyntynyt

Gender Määrittelemätön

Cell type Neuraalinen esisolu

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

C17.2 Solut | 305354**Citation** C17.2 (Cytionin luettelonumero 305354)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4511**Biomolekyylitiedot****Oncogenes** Transformantti: v-Myc**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** 2-4 x 10⁴ solua/cm²**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

C17.2 Solut | 305354

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

C17.2 Solut | 305354

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.