Product sheet

C2C12-solut | 400476

Yleisiä tietoja

Description	C2C12-solulinjaa, joka on C3H-hiirikannan 2 kuukauden ikäisen hiiren reisilihaksesta peräisin oleva kuolematon hiiren myoblastisolulinja, hyödynnetään laajasti biolääketieteellisessä tutkimuksessa sen ainutlaatuisten solujen erilaistumisominaisuuksien vuoksi. C2C12-myoblastisolut lisääntyvät nopeasti ja niillä on tyypilliset myoblastien ominaisuudet korkeassa seerumipitoisuudessa. Siirryttäessä matalan seerumin olosuhteisiin tai nälkäkuolemaan C2C12-solut aloittavat myogeenisen erilaistumisen ja muuttuvat myotubeiksi, jotka ovat supistumiskykyisten luurankolihassolujen esiasteita. C2C12-solut omaksuvat helposti eksogeenista cDNA:ta ja nukleiinihappoja transfektion avulla, joten ne ovat hyvä valinta geenieksprессiotutkimuksiin ja myoblastien ja myotubien erilaistumista koskeviin tutkimuksiin. Erilaistumisprosessi näkyy myogeenisten merkkiaineiden, kuten Myf5:n, MyoD:n, Myogeninin ja Mrf4:n, ilmentymisenä sekä lihasspesifisten merkkiaineiden, kuten Csrp3:n ja Mef2a:n, ilmentymisenä, jotka ovat välttämättömiä tutkittaessa erilaisia lihasfenotyyppejä ja luustolihaksen uudistumista. C2C12-myoblastien ainutlaatuinen muoto ja niiden muuttuminen myoblastisolurenkaiksi ja myöhemmin kypsiksi myotubeiksi seerumilla täydennetyssä väliaineessa korostavat näiden solujen dynaamista luonnetta ja niiden potentiaalia luurankolihaksen tutkimuksessa. Tutkijat käyttävät C2C12-soluviljelmissä substraatteja, kuten gelatiinihydrogeelejä, simuloidakseen in vivo -lihasolosuhteita, mikä mahdollistaa lihassolujen kehityksen ja solunulkoisen matriisin vaikutusten yksityiskohtaisen tutkimisen. Metabolinen profilointi paljastaa keskeisiä näkemyksiä lihaksen muodostumiseen ja palautumiseen liittyvistä reiteistä keskittyen olennaisiin proteiineihin ja kalsiumin rooliin supistumisessa. Geenien hiljentämistekniikat valaisevat edelleen erilaistumisprosessia ja korostavat SMAD1-fosforylaation merkitystä lihaksen uudistumisessa, mikä on ratkaisevan tärkeää, kun halutaan ymmärtää palautumista lihaksen rappeutumisen ja vammojen yhteydessä. Yhteenvetona voidaan todeta, että C2C12-solulinja toimii kriittisenä välineenä biolääketieteellisessä tutkimuksessa, sillä se tarjoaa monipuolisen alustan lihaksen muodostumisen, erilaistumisen, geenieksprессion ja eri tekijöiden syvällisen vaikutuksen luurankolihassolulinjaan, mukaan lukien myofilamenttien ja välifilamenttiproteiinien keskeinen rooli sekä yleinen organismin konteksti, jossa nämä soluprosessit kehittyvät.
Organism	Hiiri
Tissue	Lihas
Applications	Transfektion isäntä
Synonyms	C2c12, C2-C12, C12

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	C3H
Age	2 kuukautta

C2C12-solut | 400476

Gender	Nainen
Morphology	Myoblastin kaltaiset
Cell type	Myoblastit
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	C2C12 (Cytionin luettelonumero 400476)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0188

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 tuntia
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.

C2C12-solut | 400476

Seeding density	1 x 10^4 solua/cm^2 tuottaa konfluenttisen kerroksen noin 4 päivässä.
Fluid renewal	3-5 päivän välein
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.
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.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 x 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 °C, 5 $\%_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.