

C17.2 Ląstelės | 305354**Bendra informacija****Description**

C17.2 ląstelių linija yra neuronų progenitorių linija, gauta iš pelių smegenėlių, naudojant retrovirusinį onkogeno perkėlimą su paukščio myc genu. Tai viena iš kelių linijų, sukurtų nervų progenitorinių ląstelių diferenciacijos potencialui tirti, ypač daug dėmesio skiriant neuronų ir glijos ląstelių linijoms. C17.2 ląstelės pasižymi pagrindinėmis neuronų progenitorių savybėmis ir tinkamomis sąlygomis gali diferencijuotis tiek į neuronų, tiek į glijos ląsteles, todėl yra vertingos tiriant neuronų vystymąsi, neurogenezę ir gliogenezę.

Vienas iš būdingų C17.2 bruožų yra tai, kad jos gali diferencijuotis į skirtingus nervinių ląstelių tipus, išlaikydamos mitozės potencialą, todėl jas galima ilgai auginti ir atlikti eksperimentines manipuliacijas. Ši linija išreiškia žymenis, būdingus nervų kamieninėms ir progenitorinėms ląstelėms, ir, priklausomai nuo diferencijavimo protokolo, gali būti skatinama išreikšti linijai būdingus žymenis. C17.2 stabilumas ir daugialypiškumas leidžia ją naudoti tiriant veiksnius, darančius įtaką nervinių ląstelių linijiniam pasiskirstymui, taip pat ją galima naudoti nervų atstatymo ir regeneracijos tyrimuose.

Mokslininkai naudoja C17.2 ląsteles tiek in vitro, tiek in vivo, kad suprastų mechanizmus, kontroliuojančius ląstelių likimą centrinėje nervų sistemoje (CNS). Be to, dėl gerai apibūdintų genų integravimo vietų ir pastovios specifinių nervinių žymenų raiškos ši linija yra patikimas modelis neurologinio vystymosi tyrimams ir galimam nervų progenitorinių ląstelių terapiniam vaidmeniui neurodegeneracinių ligų modeliuose tirti.

Organism Pelė**Tissue** Smegenys, smegenėlės**Synonyms** C17**Charakteristikos****Breed/Subspecies** C57BL/6 x CD-1**Age** Naujagimis**Gender** Nenustatyta**Cell type** Nervų progenitorių ląstelės**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** C17.2 (Cytion katalogo numeris 305354)

C17.2 Ląstelės | 305354**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4511**Biomolekuliniai duomenys****Oncogenes** Transformantas: v-Myc**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 2-4 x 10⁴ ląstelės/cm²**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

C17.2 Ląstelės | 305354

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.