

**C17.2 Šūnas | 305354****Vispārīga informācija****Description**

C17.2 šūnu līnija ir neironu progenitoru līnija, kas iegūta no peļu smadzenītēm, izmantojot retrovīrusu mediētu onkogēna pārnesi ar putnu myc gēnu. Tā ir viena no vairākām līnijām, kas izstrādātas, lai pētītu nervu progenitoru šūnu diferenciācijas potenciālu, īpaši koncentrējoties uz neironu un gliālo šūnu līnijām. C17.2 šūnām piemīt galvenās nervu progenitoru īpašības, un tās piemērotos apstākļos var diferencēties gan neironu, gan glijas šūnās, tāpēc tās ir vērtīgas neironu attīstības, neiroģēzes un gliogēzes pētījumos.

Viena no C17.2 raksturīgajām iezīmēm ir tās potenciāls diferencēties dažādos nervu šūnu tipos, vienlaikus saglabājot mitotisko potenciālu, kas ļauj veikt ilgstošas kultūras un eksperimentālas manipulācijas. Šī līnija izrāda nervu cilmes un progenitoru šūnām raksturīgus marķierus, un atkarībā no diferenciācijas protokola to var inducēt, lai izteiktu līniju specifiskus marķierus. C17.2 stabilitāte un multipotence ļauj to izmantot, lai pētītu faktorus, kas ietekmē nervu šūnu līnijuveides veidošanos, kā arī izmantot nervu atjaunošanas un reģenerācijas pētījumos.

Pētnieki izmanto C17.2 šūnas gan in vitro, gan in vivo apstākļos, lai izprastu mehānismus, kas kontrolē šūnu likteni centrālajā nervu sistēmā (CNS). Turklāt šīs līnijas labi raksturotās gēnu integrācijas vietas un konsekventā specifisku nervu marķieru ekspresija padara to par uzticamu modeli neiroloģiskās attīstības pētījumiem un neironu progenitoru šūnu potenciālās terapeitiskās lomas izpētei neirodeģeneratīvo slimību modeļos.

**Organism** Pele**Tissue** Smadzenes, smadzenītes**Synonyms** C17**Raksturojums****Breed/Subspecies** C57BL/6 x CD-1**Age** Jaundzimušais**Gender** Nav norādīts**Cell type** Neironu progenitoru šūnas**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** C17.2 (Cytion kataloga numurs 305354)

**C17.2 Šūnas | 305354****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4511**Biomolekulārie dati****Oncogenes** Transformants: v-Myc**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 2 līdz 4 x 10<sup>4</sup> šūnas/cm<sup>2</sup>**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## C17.2 Šūnas | 305354

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.