

C17.2 Celler | 305354**Generell informasjon****Description**

C17.2-cellelinjen er en nevralt stamcellelinje som er avledet fra lillehjernen hos mus ved hjelp av retroviral onkogenoverføring med det aviare myc-genet. Den er en av flere linjer som er utviklet for å studere differensieringspotensialet til nevralt stamceller, med særlig fokus på nevron- og gliacellelinjer. C17.2-celler har viktige egenskaper som nevralt stamceller og kan differensiere til både nevrone og gliaceller under passende forhold, noe som gjør dem verdifulle for studier av nevralt utvikling, nevrogenese og gliogenese.

C17.2 kjennetegnes ved at den kan differensiere til forskjellige nevralt celletyper samtidig som den opprettholder mitotisk potensial, noe som gir mulighet for utvidet dyrking og eksperimentell manipulering. Denne linjen uttrykker markører som er karakteristiske for nevralt stam- og progenitorceller, og kan induseres til å uttrykke linjespesifikke markører avhengig av differensieringsprotokollen. Stabiliteten og multipotensen til C17.2 gjør det mulig å bruke den til å undersøke faktorer som påvirker nevralt celler linjebinding, og den kan også brukes i forskning på reparasjon og regenerering av nervesystemet.

Forskere bruker C17.2-celler i både in vitro- og in vivo-sammenheng for å forstå mekanismer som styrer celleskjebnen i sentralnervesystemet (CNS). I tillegg gjør cellelinjens velkarakteriserte genintegrasjonssteder og konsistente uttrykk av spesifikke nevralt markører den til en pålitelig modell for studier av nevralt utvikling og for å utforske de potensielle terapeutiske rollene til nevralt stamceller i modeller for nevrodegenerative sykdommer.

Organism Mus**Tissue** Hjerne, lillehjernen**Synonyms** C17**Kjennetegn****Breed/Subspecies** C57BL/6 x CD-1**Age** Nyfødt**Gender** Uspesifisert**Cell type** Nevral progenitorcelle**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** C17.2 (Cytion-katalognummer 305354)

C17.2 Celler | 305354**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4511**Biomolekylære data****Oncogenes** Transformant: v-Myc**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:10 til 1:20 anbefales**Seeding density** 2 til 4×10^4 celler/cm²**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

C17.2 Celler | 305354

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

C17.2 Cells | 305354

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.