

C17.2 Komórki | 305354**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa C17.2 jest neuronalną linią progenitorową pochodzącą z mózdzku myszy przy użyciu retrowirusowego transferu onkogenu z ptasim genem myc. Jest to jedna z kilku linii opracowanych w celu badania potencjału różnicowania neuronalnych komórek progenitorowych, ze szczególnym uwzględnieniem linii neuronów i komórek glejowych. Komórki C17.2 wykazują kluczowe cechy progenitorów neuronalnych i mogą różnicować się zarówno w komórki neuronalne, jak i glejowe w odpowiednich warunkach, co czyni je cennymi w badaniach nad rozwojem neuronów, neurogenezą i glejogenezą.

Jedną z cech charakterystycznych linii C17.2 jest jej potencjał do różnicowania się w różne typy komórek neuronalnych przy jednoczesnym zachowaniu potencjału mitotycznego, co pozwala na rozszerzoną hodowlę i manipulacje eksperymentalne. Linia ta wyraża markery charakterystyczne dla neuronalnych komórek macierzystych i progenitorowych i może być indukowana do wyrażania markerów specyficznych dla linii w zależności od protokołu różnicowania. Stabilność i multipotencjalność C17.2 umożliwiają jej wykorzystanie do badania czynników wpływających na zaangażowanie linii w komórkach nerwowych, a także jej zastosowanie w badaniach nad naprawą i regeneracją neuronów.

Naukowcy wykorzystują komórki C17.2 zarówno w kontekście in vitro, jak i in vivo, aby zrozumieć mechanizmy kontrolujące losy komórek w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Ponadto, dobrze scharakteryzowane miejsca integracji genów i spójna ekspresja określonych markerów neuronalnych sprawiają, że linia ta jest niezawodnym modelem do badań neurorozwojowych i do badania potencjalnej roli terapeutycznej neuronalnych komórek progenitorowych w modelach chorób neurodegeneracyjnych.

Organism

Mysz

Tissue

Mózg, mózdzek

Synonyms

C17

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

C57BL/6 x CD-1

Age

Noworodek

Gender

Nieokreślony

Cell type

Neuronalna komórka progenitorowa

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

C17.2 Komórki | 305354**Citation** C17.2 (numer katalogowy Cytion 305354)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4511**Dane biomolekularne****Oncogenes** Transformant: v-Myc**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:10 do 1:20**Seeding density** 2 do 4×10^4 komórek/cm²

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

C17.2 Komórki | 305354

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.