

Komórki C6 | 500142**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa C6 utrzymuje typ komórek glejowych o morfologii fibroblastów i pochodzi z glejaka szczura Wistar-Furth. Glejak został wywołany przez ekspozycję na N-nitrozomocznik, po wielu cyklach naprzemiennej hodowli i pasażach zwierząt.

Linia komórkowa glejaka C6 jest często wykorzystywana w badaniach neuro-onkologicznych do tworzenia modeli zwierzęcych, które ściśle naśladują cechy ludzkiego glejaka, pomagając w opracowywaniu nowych środków i strategii terapeutycznych. Jest szczególnie skuteczna w hodowli komórek 3D i badaniach przesiewowych o wysokiej wydajności.

Komórki C6 są zróżnicowane genetycznie, posiadając gen p53 typu dzikiego, zwiększoną ekspresję genu Rb i zmutowany locus p16/Cdkn2a/Ink4a, ale pozbawione ekspresji mRNA p16 i p19ARF. W ludzkich glejakach występuje również nadekspresja kilku genów, takich jak PDGFβ, IGF-1, EGFR i białka prekursorowe Erb3/Her3.

Jednak ekspresja IGF-2, FGF-9 i FGF-10 jest zmniejszona, podczas gdy ekspresja genu MMP-7 pozostaje niezmienną. Podobnie jak ludzkie glejaki, komórki C6 wykazują zwiększoną aktywność genów szlaku Ras, która jest regulowana przez podwyższoną ekspresję białka aktywatora trifosforanu guaniny Ras.

Linia komórkowa C6 była wykorzystywana w różnych badaniach. Na przykład wykorzystano ją do zbadania zdolności 2-(2,4-dihydroksyfenyl)otieno-1,3-tiazyn-4-onu (BChTT) do zatrzymania proliferacji komórek nowotworowych i zbadania mechanizmów zaangażowanych w ten proces.

W innym badaniu właściwości cytotoksyczne i przeciwutleniające ekstraktu CO2 w stanie nadkrytycznym (SCE) z brody starca (*Usnea barbata*) badano przy użyciu komórek C6. Co ciekawe, komórki te wykazują zwiększony poziom aktywności dehydrogenazy fosforanu glicerolu w odpowiedzi na glukokortykoidy.

Organism Szczer**Tissue** Mózg**Disease** Glejak**Synonyms** C-6, C 6, RGC-6, RGC6, RGc6**Charakterystyka****Age** Nieokreślony**Gender** Mężczyzna**Morphology** Podobny do fibroblastów**Cell type** Komórki glejowe

Komórki C6 | 500142

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Dane regulacyjne

Citation	C6 (numer katalogowy Cytion 500142)
-----------------	-------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10116
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_0194
-----------------------------	-----------

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Glukokortykoid
----------------------------	----------------

Viruses	Pozytywny wynik dla LCMV
----------------	--------------------------

Virus susceptibility	Pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (Indiana), krowianka, opryszczka zwykła
-----------------------------	--

Virus resistance	Poliowirus 3
-------------------------	--------------

Reverse transcriptase	Negatywny
------------------------------	-----------

Products	Białko S-100, produkcja dehydrogenazy fosforanu glicerolu w odpowiedzi na glukokortykoidy, somatotropina.
-----------------	---

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Komórki C6 | 500142

Doubling time 24 godziny

Subculturing Usuń 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 1:2 do 1:3

Seeding density 1×10^4 komórek/cm² utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

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.

Komórki C6 | 500142**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 zawieszonych, 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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki C6 | 500142

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 / Profil genetyczny / HLA

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.

Profil STR

Rat_D1Wox31: 104
Rat_D2Wox37: 156
Rat_D19Wox11: 220,228
Rat_D10Wox8: 266
Rat_D4Wox7: 145
Rat_D2Wox27: 207,215
Rat_D5Rat33: 122
Rat_D10Wox11: 156,171
Rat_D1Wox23: 214
Rat_D12Wox1: 406
Rat_D6Wox2: 104
Rat_D8Wox7: 182
Rat_D6Cebr1: 233,239
SRY: x,Y