

**Células C2C12 | 400476****Informações gerais****Description**

A linha celular C2C12, uma linha celular imortalizada de mioblastos de ratinho derivada do músculo da coxa de um ratinho de 2 meses de idade da estirpe C3H, é amplamente utilizada na investigação biomédica pelas suas propriedades únicas de diferenciação celular. As células de mioblastos C2C12 proliferam rapidamente e apresentam características típicas de mioblastos em condições de elevado teor de soro. Ao passar para condições de baixo teor de soro ou de inanição, as células C2C12 iniciam a diferenciação miogénica, transitando para miotubos, que são precursores das células musculares esqueléticas contrácteis.

As células C2C12 incorporam facilmente cDNA e ácidos nucleicos exógenos através de transfecção, o que as torna uma boa escolha para estudos de expressão genética e investigações sobre a diferenciação de mioblastos e miotubos. O processo de diferenciação é marcado pela expressão de marcadores miogénicos como Myf5, MyoD, Myogenin e Mrf4, juntamente com marcadores específicos do músculo como Csrp3 e Mef2a, que são essenciais no estudo de diferentes fenótipos musculares e da regeneração do músculo esquelético.

A forma única dos mioblastos C2C12 e a sua transformação em anéis de células mioblásticas e, subsequentemente, em miotubos maduros em meios suplementados com soro sublinham a natureza dinâmica destas células e o seu potencial na investigação do músculo esquelético.

Os investigadores utilizam substratos como hidrogéis de gelatina para culturas de células C2C12 para simular as condições do músculo in vivo, permitindo estudos pormenorizados do desenvolvimento das células musculares e dos efeitos da matriz extracelular. A análise do perfil metabólico revela conhecimentos fundamentais sobre as vias envolvidas na formação e recuperação muscular, centrando-se nas proteínas essenciais e no papel do cálcio na contração. As técnicas de silenciamento de genes esclarecem ainda mais o processo de diferenciação, destacando a importância da fosforilação de SMAD1 na regeneração muscular, crucial para a compreensão da recuperação na perda de massa muscular e nas lesões.

Em suma, a linha celular C2C12 constitui uma ferramenta fundamental no domínio da investigação biomédica, oferecendo uma plataforma versátil para explorar os meandros da formação e diferenciação muscular, a expressão genética e o impacto profundo de vários factores na linhagem celular do músculo esquelético, incluindo o papel fundamental dos miofilamentos, das proteínas dos filamentos intermédios e do contexto global do organismo em que estes processos celulares se desenrolam.

**Organism** Rato**Tissue** Músculo**Applications** Hospedeiro de transfecção**Synonyms** C2c12, C2-C12, C12**Caraterísticas****Breed/Subspecies** C3H**Age** 2 meses

**Células C2C12 | 400476**

<b>Gender</b>	Feminino
<b>Morphology</b>	Tipo mioblasto
<b>Cell type</b>	Mioblasto
<b>Growth properties</b>	Aderente

**Dados regulamentares**

<b>Citation</b>	C2C12 (número de catálogo Cytion 400476)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0188

**Dados biomoleculares****Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	24 horas
<b>Subculturing</b>	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> células/cm <sup>2</sup> produzirá uma camada confluenta em cerca de 4 dias

## Células C2C12 | 400476

**Fluid renewal** A cada 3 a 5 dias

**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera humidificada.

## Células C2C12 | 400476

**Flask Coating** Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.