

**Bunky C2C12 | 400476****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia C2C12, immortalizovaná myšia myoblastová bunková línia odvodená zo stehenného svalu 2-mesačnej myši kmeňa C3H, sa vo veľkej miere využíva v biomedicínskom výskume pre svoje jedinečné diferenciačné vlastnosti. Bunky myoblastov C2C12 sa rýchlo množia a vykazujú typické vlastnosti myoblastov v podmienkach s vysokým obsahom séra. Pri prechode na podmienky s nízkym obsahom séra alebo pri hladovaní bunky C2C12 začínajú myogénnu diferenciáciu a menia sa na myotuby, ktoré sú prekuzormi kontraktilných buniek kostrového svalstva.

Bunky C2C12 ľahko inkorporujú exogénnu cDNA a nukleové kyseliny prostredníctvom transfekcie, čo z nich robí dobrú voľbu pre štúdie génovej expresie a výskumy diferenciácie myoblastov a myotub. Proces diferenciácie sa vyznačuje expresiou myogénnych markerov, ako sú Myf5, MyoD, Myogenin a Mrf4, spolu s markermi špecifickými pre svaly, ako sú Csrp3 a Mef2a, ktoré sú nevyhnutné pri štúdiu rôznych svalových fenotypov a regenerácie kostrového svalstva.

Jedinečný tvar myoblastov C2C12 a ich transformácia na myoblastové bunkové krúžky a následne na zrelé myotuby v médiu s prídavkom séra podčiarkuje dynamickú povahu týchto buniek a ich potenciál vo výskume kostrového svalstva.

Výskumníci používajú substráty, ako sú želatínové hydrogély pre bunkové kultúry C2C12, na simuláciu podmienok svalov in vivo, čo umožňuje podrobné štúdie vývoja svalových buniek a účinkov extracelulárnej matrice. Metabolické profilovanie odhaľuje kľúčové poznatky o dráhach zapojených do tvorby a obnovy svalov so zameraním na základné proteíny a úlohu vápnika pri kontrakcii. Techniky umlčovania génov ďalej osvetľujú proces diferenciácie a zdôrazňujú význam fosforylácie SMAD1 pri regenerácii svalov, čo je kľúčové pre pochopenie regenerácie pri ochabovaní svalov a zraneniach.

Celkovo možno konštatovať, že bunková línia C2C12 slúži ako rozhodujúci nástroj v oblasti biomedicínskeho výskumu a ponúka univerzálnu platformu na skúmanie zložitostí tvorby svalov, diferenciácie, expresie génov a hlbokého vplyvu rôznych faktorov na bunkovú líniu kostrového svalu vrátane kľúčovej úlohy myofilamentov, proteínov intermediárnych vlákien a celkového kontextu organizmu, v ktorom sa tieto bunkové procesy odohrávajú.

**Organism** Myš**Tissue** Svaly**Applications** Transfekčný hositeľ**Synonyms** C2c12, C2-C12, C12**Charakteristika****Breed/Subspecies** C3H**Age** 2 mesiace

**Bunky C2C12 | 400476**

<b>Gender</b>	Ženy
<b>Morphology</b>	Myoblastom podobné
<b>Cell type</b>	Myoblast
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Regulačné údaje**

<b>Citation</b>	C2C12 (katalógové číslo Cytion 400476)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0188

**Biomolekulárne údaje****Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	24 hodín
<b>Subculturing</b>	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup> vytvorí konfluentnú vrstvu za približne 4 dni.

**Bunky C2C12 | 400476****Fluid renewal** Každých 3 až 5 dní**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii  $5 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žiadne

## Bunky C2C12 | 400476

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.