

Клетки P19 | 400416

Обща информация

Description

Клетъчната линия P19, вид плурипотентен ембрионален карцином, първоначално е получена от тератокарцином на мишка от щама СЗН/Не. Тази епителноподобна клетъчна линия проявява способност за клониране с висока степен на ефективност, когато се отглежда в среда, наситена с 0,1 mM β -меркаптоетанол. Забележителна особеност на клетките P19 е тяхната способност да се диференцират в невронни и глиални клетки, когато са изложени на ретиноева киселина. Едновременно с това те имат потенциала да се трансформират в сърдечен и скелетен мускул, когато са изложени на въздействието на диметилсулфоксид (DMSO). Когато са подложени както на ретиноева киселина, така и на DMSO, те показват предимно характеристиките на диференциация, предизвикана от ретиноевата киселина.

Клетъчната линия P19 произхожда от мишка (*Mus musculus*) и принадлежи към широката класификация на Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata и Tetrapod. Клетките възпроизвеждат морфологията на тип епителна тъкан, получена от ембриона, и се свързват със заболяването тератокарцином. Те се използват предимно в приложения за 3D клетъчни култури в рамките на продуктовата категория животински клетки.

Въпреки че раковите клетки представляват значителна заплаха за здравето поради бързия си и агресивен растеж, те предлагат и безценен ресурс за изследователите, които изучават развитието на раковите клетки и търсят по-целенасочени лечения. През 1982 г. е създадена клетъчната линия P19, когато Макбърни и Роджърс трансплантират 7,5-дневен миши ембрион в тестис, за да предизвикат туморен растеж. Те успешно изолират клетъчни култури от първичния тумор, съдържащи недиференцирани стволови клетки, наречени клетки от ембрионален карцином P19. Тези клетки демонстрират бърз растеж без нужда от хранещи клетки и са лесни за поддържане. Последвалото инжектиране в бластоцисти на друг щам мишки потвърждава мултипотентността на клетките P19, тъй като в реципиентната мишка израстват тъкани от всички три зародишни слоя.

Няколко подтипа клетъчни линии са получени от оригиналните клетки P19, включително P19S18, P19D3, P19RAC65 и P19C16. Всеки от тези подтипове притежава уникална способност за диференциация в невронни или мускулни клетки, когато се третира съответно с ретиноева киселина или DMSO. В по-нови проучвания са генерирани клетъчни линии, получени от диференцирани клетки P19, които поради плурипотентността на клетките P19 могат да се трансформират в ектодерма, мезодерма и ендодермоподобни клетки.

Клетките P19 са известни с устойчивия си растеж в среда, допълнена със серум. Тяхната диференциация може да бъде ефективно контролирана с помощта на нетоксични лекарства, като например ретиноева киселина, което води до развитието на неврони, астроглия и микроглия. От друга страна, агрегати от клетки P19, изложени на DMSO, се диференцират в ендодермални и мезодермални производни, включително сърдечен и скелетен мускул. Клетките P19 също така се поддават на трансфекция с ДНК, кодираща рекомбинантни гени, и стабилни линии, експресиращи тези гени, могат да бъдат изолирани по удобен начин. Тази податливост и гъвкавост правят клетките P19 отличен ресурс за изследване на молекулярните механизми, които управляват решенията за развитие на диференциращите се плурипотентни клетки.

Organism Мишка

Tissue Тестис

Клетки P19 | 400416

Disease Тератокарцином

Synonyms P-19

Характеристики

Breed/Subspecies СЗН/Не

Gender Мъжки

Morphology Подобни на фибробласти

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation P19 (каталожен номер на Cytion 400416)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_2153

Биомолекулярни данни

Karyotype N = 40, xY

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Клетки P19 | 400416

Subculturing Отстранете средата и изплакнете адхезираните клетки, като използвате PBS без калций и магнезий (3-5 ml PBS за T25, 5-10 ml за колби за клетъчни култури T75). Добавете TrypleExpress (1-2 ml за T25, 2,5 ml за колба за клетъчни култури T75), като клетъчният лист трябва да бъде покрит напълно. Инкубирайте при 37 градуса по Целзий за 10 минути. Внимателно ресуспендирайте клетките, добавянето на среда е по избор, но не е необходимо, и ги разпределете в нови колби, които съдържат прясна среда. Не позволявайте на клетките да останат конфлуентни. Субкултивирайте най-малко на всеки 48 часа.

Split ratio Препоръчва се съотношение 1:10

Seeding density Субкултури поне на всеки 48 часа

Fluid renewal На всеки 2 дни

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки P19 | 400416

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки P19 | 400416

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Профил на STR

Amelogenin: x,x