

P19 Buňky | 400416**Obecné informace****Description**

Buněčná linie P19, typ pluripotentního embryonálního karcinomu, byla původně získána z teratokarcinomu u myši kmene C3H/He. Tato epitelální buněčná linie vykazuje schopnost klonovat se s vysokou zdatností, pokud je pěstována v médiu s přídavkem 0,1 mM β -merkapt ethanolu. Pozoruhodným rysem buněk P19 je jejich schopnost diferenciaci na neuronální a gliové buňky při působení kyseliny retinové. Současně mají potenciál transformovat se na srdeční a kosterní sval, pokud jsou vystaveny působení dimethylsulfoxidu (DMSO). Při působení kyseliny retinové i DMSO vykazují převážně znaky diferenciaci vyvolané kyselinou retinovou.

Buněčná linie P19 pochází z myši (*Mus musculus*) a patří do široké klasifikace Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata a Tetrapod. Buňky ztělesňují morfologii epitelového typu tkáně odvozené od embrya a jsou spojovány s onemocněním teratokarcinomem. Využívají se především v aplikacích 3D buněčných kultur v rámci kategorie produktů živočišných buněk.

Nádorové buňky sice představují významnou zdravotní hrozbu kvůli svému rychlému a agresivnímu růstu, ale zároveň představují neocenitelný zdroj pro výzkumné pracovníky, kteří studují vývoj nádorových buněk a hledají cílenější léčbu. V roce 1982 vytvořili McBurney a Rogers buněčnou linii P19, když 7,5denní myší embryo transplantovali do varlete, aby vyvolali růst nádoru. Z primárního nádoru úspěšně izolovali buněčné kultury obsahující nediferencované kmenové buňky, které označili jako buňky embryonálního karcinomu P19. Tyto buňky vykazovaly rychlý růst bez nutnosti použití napájecích buněk a snadno se udržovaly. Následná injekce do blastocysty jiného myšího kmene potvrdila multipotenci buněk P19, protože v myších příjemcích rostly tkáně ze všech tří zárodečných vrstev.

Z původních buněk P19 bylo odvozeno několik podtypů buněk, včetně P19S18, P19D3, P19RAC65 a P19C16. Každý z těchto podtypů má jedinečnou schopnost diferenciaci na neuronální buňky nebo svalové buňky při působení kyseliny retinové, respektive DMSO. Novější studie vytvořily buněčné linie odvozené z diferencovaných buněk P19, které se díky pluripotenci buněk P19 mohou transformovat na buňky podobné ektodermu, mezodermu a endodermu.

Buňky P19 jsou známy svým trvalým růstem v médiích s přídavkem séra. Jejich diferenciaci lze účinně řídit pomocí netoxických léčiv, jako je kyselina retinová, což vede k vývoji neuronů, astroglie a mikroglie. Na druhé straně se agregáty buněk P19 vystavené působení DMSO diferencují v endodermální a mezodermální deriváty, včetně srdečního a kosterního svalu. Buňky P19 jsou také vhodné pro transfekci DNA kódující rekombinantní geny a lze pohodlně izolovat stabilní linie exprimující tyto geny. Tato tvárnost a všestrannost činí z buněk P19 vynikající zdroj pro zkoumání molekulárních mechanismů, které řídí vývojová rozhodnutí diferencujících se pluripotentních buněk.

Organism

Myš

Tissue

Testis

Disease

Teratokarcinom

Synonyms

P-19

Charakteristika

P19 Buňky | 400416**Breed/Subspecies** C3H/He**Gender** Muži**Morphology** Fibroblastům podobné**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** P19 (katalogové číslo Cytion 400416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2153**Depositor** Burney**Biomolekulární data****Karyotype** N = 40, xY**Zpracování****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte médium a opláchněte adherované buňky pomocí PBS bez vápníku a hořčíku (3-5 ml PBS pro baňky T25, 5-10 ml pro baňky T75). Přidejte TrypleExpress (1-2 ml na T25, 2,5 ml na baňku s buněčnou kulturou T75), buněčný list musí být zcela pokryt. Inkubujte při teplotě 37 °C po dobu 10 minut. Opatrně resuspendujte buňky, přidání média je volitelné, ale není nutné, a rozdělte je do nových baněk, které obsahují čerstvé médium. Nedovolte, aby buňky zůstaly konfluentní. Subkultivujte nejméně každých 48 hodin.

P19 Buňky | 400416

Split ratio Doporučuje se poměr 1:10

Seeding density Subkultury alespoň každých 48 hodin

Fluid renewal Každé 2 dny

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

P19 Buňky | 400416

Flask Coating Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR Amelogenin: x,x