Product sheet

Buňky PC-12 | 500311

Obecné informace

Description	Buňky PC-12 jsou buněčnou linií odvozenou z feochromocytomu dřeně nadledvin potkana. Tyto buňky jsou embryonálního původu, rostou adherentně a připomínají směs neuroblastických a eozinofilních buněk. Buňky PC-12 jsou katecholaminové buňky, které syntetizují, ukládají a uvolňují noradrenalin a dopamin. Mají průměr přibližně 10-12 mikrometrů a jsou to malé buňky nepravidelného tvaru. Buněčná linie PC12 je klasickým modelem neuronálních buněk díky své schopnosti získat vlastnosti sympatických neuronů při působení nervového růstového faktoru (NGF). Studie regulace dopaminu ukázaly, že buňky PC12 syntetizují, uvolňují a zpětně vychytávají dopamin a byly podrobně charakterizovány z hlediska neurosekrece a přítomnosti iontových kanálů a neurotransmiterových receptorů. Kromě toho se relativní podíl různých podtypů Ca kanálů během diferenciace mění. Buněčná linie PC12 je zavedeným modelem neuronálních buněk, který je zvláště užitečný při studiu buněčných reakcí na nervové růstové faktory (NGF) a toho, jak tyto reakce vedou k expresi proteinů specifických pro diferenciaci a diferenciaci. Při kultivaci v NGF se buňky PC12 morfologicky a funkčně diferencují v neurony sympatických ganglií. Diferenciace je výsledkem reverzibilní indukce neuronálního fenotypu NGF. Bylo prokázáno, že kolagenový povlak je příznivý pro dosažení neuronálních charakteristik z hlediska délky a hustoty neuritů působením NGF. Buňky PC12 jsou nádorové a byly získány z potkaních samců kmene New England Deaconess Hospital. Buněčná linie PC-12 má 40 chromozomů, 38 autozomů plus xY. Nervový růstový faktor (NGF) je v buňkách PC12 exprimován a působení NGF je jedním z klíčových regulátorů diferenciace buněk. Závěrem lze říci, že buňky PC12 jsou všestranným a široce používaným modelovým systémem v neurobiologii díky své schopnosti získat vlastnosti sympatických neuronů při působení nervového růstového faktoru (NGF). Tyto buňky byly rozsáhle charakterizovány z hlediska neurosekrece, iontových kanálů a neurotransmiterových receptorů. Jejich mimořádná univerzálnost pro farmakologické testování a použití jako zavedeného modelu pro studium proliferace a diferenciace neuronálních buněk z nich činí cenný nástroj v neurobiologickém výzkumu.
Organism	Krysy
Tissue	Nadledvinky
Disease	Feochromocytom
Metastatic site	Neplatí (feochromocytom dřeně nadledviny; primární ložisko nádoru je nadledvina)
Applications	Výzkum v oblasti neurobiologie; diferenciace neuronů indukovaná NGF; fyziologie dopaminu a katecholaminů; neurosekrece; iontové kanály (vápník, sodík); farmakologie receptorů neurotransmiterů; screening neuroprotektivních látek; modely Parkinsonovy choroby
Synonyms	PC 12, PC12

Charakteristika

Buňky PC-12 | 500311

Age	Nespecifikováno
Gender	Muži
Ethnicity	Japonský
Morphology	Polygonální
Cell type	Buňky feochromocytomu (neuroendokrinní/chromafinové)
Growth properties	Adhezivní/suspendovaný (na površích potažených kolagenem roste jako adhezivní; tvoří také suspendované shluky)

Regulační údaje

Citation	PC-12 (katalogové číslo Cytion 500311)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_S979
GMO Status	Bez genetické modifikace; buněčná linie feochromocytomu krysy divokého typu

Biomolekulární data

Receptors expressed	Nervový růstový faktor (NGF)
Tumorigenic	Ano, u krys z kmene New England Deaconess Hospital
Products	Katecholaminy, dopamin
Karyotype	40 chromozomů, 38 autozomů a xY

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)

Buňky PC-12 | 500311

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	TrypLE Express (adhérní na kolagenu); pipetovací resuspenzní roztok pro suspenzní kultivaci
Subculturing	Suspenzní buňky: Odstraňte buňky ze substrátu pipetováním čerstvým médiem. Chcete-li získat jednotlivé buňky, propíchněte suspenzi několikrát jehlou o průměru 22 a dávkujte do nových baněk. Pěstování na kolagenu: Pro odstranění adherentních buněk použijte následující standardní protokol. Odstraňte médium a opláchněte adherentní 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.
Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 48 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.

Buňky PC-12 | 500311

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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 zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte 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 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Kolagen

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 vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Rat_D1Wox31**: 100 **Rat_D2Wox37**: 156 **Rat_D19Wox11**: 228 **Rat_D10Wox8**: 262,266 **Rat_D4Wox7**: 145 **Rat_D2Wox27**: 207 **Rat_D5Rat33**: 116,118,120 **Rat_D10Wox11**: 174 **Rat_D1Wox23**: 226,23 **Rat_D12Wox1**: 402,406 **Rat_D6Wox2**: 104 **Rat_D8Wox7**: 182 **Rat_D6Cebr1**: 229,231,233 **SRY**: x,Y