

P19-celler | 400416**Generel information****Description**

P19-cellelinjen, en type pluripotent embryonalt karcinom, blev oprindeligt opnået fra et teratocarcinom i en C3H/He-stamme mus. Denne epitel-lignende cellelinje udviser evnen til at klonе med høj effektivitet, når den dyrkes i et medium tilsat 0,1 mM β -mercaptoethanol. Et bemærkelsesværdigt træk ved P19-cellerne er deres evne til at differentiere sig til neuronale og gliale celler, når de udsættes for retinsyre. Samtidig har de potentiale til at omdanne sig til hjerte- og skeletmuskler, når de udsættes for dimethylsulfoxid (DMSO). Når de udsættes for både retinsyre og DMSO, viser de overvejende karakteristika for retinsyreinduceret differentiering.

P19-cellelinjen har sin oprindelse i musen (*Mus musculus*) og tilhører den brede klassifikation af Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata og Tetrapod. Cellerne har morfologi som en epitelial vævstype, der stammer fra embryoet, og er forbundet med sygdommen teratocarcinom. De anvendes primært i 3D-cellekulturapplikationer inden for produktkategorien dyreceller.

Mens kræftceller udgør en betydelig sundhedstrussel på grund af deres hurtige og aggressive vækst, udgør de også en uvurderlig ressource for forskere, der studerer kræftcellers udvikling og søger mere målrettede behandlinger. I 1982 blev P19-cellelinjen skabt, da et 7,5-dages museembryo blev transplanteret ind i en testikel for at fremkalde tumorvækst af McBurney og Rogers. Det lykkedes dem at isolere cellekulturer fra den primære tumor, som indeholdt udifferentierede stamceller og blev kaldt embryonale karcinom P19-celler. Disse celler viste hurtig vækst uden behov for feeder celler og var nemme at vedligeholde. Efterfølgende injektion i blastocyster fra en anden musestamme bekræftede P19-cellernes multipotentiale, da væv fra alle tre kimlag voksede i den modtagende mus.

Flere subtypecellelinjer er blevet afledt af de oprindelige P19-celler, herunder P19S18, P19D3, P19RAC65 og P19C16. Hver af disse undertyper har en unik evne til at differentiere sig til neuronale celler eller muskelceller, når de behandles med henholdsvis retinsyre eller DMSO. Nyere undersøgelser har genereret cellelinjer, der stammer fra differentierede P19-celler, som på grund af P19-cellernes pluripotens kan omdannes til ektoderm, mesoderm og endoderm-lignende celler.

P19-celler er kendt for deres vedvarende vækst i serum-supplerede medier. Deres differentiering kan kontrolleres effektivt ved hjælp af ikke-toksiske stoffer som retinsyre, hvilket fører til udvikling af neuroner, astroglia og mikroglia. På den anden side differentieres aggregater af P19-celler, der udsættes for DMSO, til endodermale og mesodermale derivater, herunder hjerte- og skeletmuskler. P19-celler kan også transfekteres med DNA, der koder for rekombinante gener, og stabile linjer, der udtrykker disse gener, kan nemt isoleres. Denne formbarhed og alsidighed gør P19-celler til en fremragende ressource til at udforske de molekylære mekanismer, der styrer de differentierende pluripotente cellers udviklingsbeslutninger.

Organism

Mus

Tissue

Testis

Disease

Teratokarcinom

Synonyms

P-19

Karakteristika

P19-celler | 400416**Breed/Subspecies** C3H/He**Gender** Mand**Morphology** Fibroblast-lignende**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** P19 (Cytion katalognummer 400416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2153**Biomolekylære data****Karyotype** N = 40, xY**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern mediet, og skyl de klæbende celler med PBS uden calcium og magnesium (3-5 ml PBS for T25, 5-10 ml for T75-cellekulturflasker). Tilsæt TrypleExpress (1-2 ml pr. T25, 2,5 ml pr. T75-cellekulturkolbe), celloarket skal være helt dækket. Inkuber ved 37 grader Celsius i 10 minutter. Resuspender forsigtigt cellerne, tilsætning af medium er valgfrit, men ikke nødvendigt, og fordel dem i nye kolber, der indeholder frisk medium. Lad ikke cellerne forblive sammenflydende. Subkulturér mindst hver 48. time.**Split ratio** Det anbefales at bruge et forhold på 1:10

P19-celler | 400416

Seeding density Subkultur mindst hver 48. time

Fluid renewal Hver anden dag

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befugtet atmosfære.

Flask Coating Ingen

P19-celler | 400416

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

STR-profil

Amelogenin: x,x