

PC-12-celler | 500311

Generel information

Description

PC-12-celler er en cellelinje, der stammer fra et fæokromocytom i rotternes binyremarv. Disse celler er af embryonal oprindelse, vokser adhærent og ligner en blanding af neuroblastiske og eosinofile celler. PC-12-celler er katekolaminceller, der syntetiserer, opbevarer og frigiver noradrenalin og dopamin. De har en diameter på ca. 10-12 mikrometer og er små, uregelmæssigt formede celler. PC12-cellelinjen er en klassisk neuronal cellemodel på grund af dens evne til at få sympatiske neuronfunktioner, når den behandles med nervevækstfaktor (NGF).

Undersøgelser af dopaminregulering har vist, at PC12-celler syntetiserer, frigiver og genoptager dopamin og er blevet grundigt karakteriseret for neurosekretion og tilstedeværelsen af ionkanaler og neurotransmitterreceptorer. Desuden ændres den relative andel af forskellige undertyper af Ca-kanaler under differentiering. PC12-cellelinjen er en etableret neuronal cellemodel, der er særlig nyttig til at studere cellulære reaktioner på nervevækstfaktorer (NGF), og hvordan disse fører til udtryk af differentieringsspecifikke proteiner og differentiering. Når PC12-celler dyrkes i NGF, differentieres de morfologisk og funktionelt til sympatiske ganglionneuroner. Differentieringen er resultatet af NGF's reversible induktion af en neuronal fænotype. Kollagenbelægning har vist sig at være gunstig for at opnå neuronale egenskaber i form af længde og tæthed af neuritter ved NGF-behandling.

PC12-celler er tumorigeniske og stammer fra hanrotter af New England Deaconess Hospital-stammen. PC-12-cellelinjen har 40 kromosomer, 38 autosomer plus xY. Nervevækstfaktor (NGF) udtrykkes i PC12-celler, og eksponering for NGF er en afgørende regulator for celledifferentiering.

Konklusionen er, at PC12-celler er et alsidigt og meget anvendt modelsystem i neurobiologi på grund af deres evne til at udvikle sympatiske neuronfunktioner, når de udsættes for nervevækstfaktor (NGF). Disse celler er blevet grundigt karakteriseret for neurosekretion, ionkanaler og neurotransmitterreceptorer. Deres ekstreme alsidighed til farmakologisk testning og brug som en etableret model til undersøgelse af spredning og differentiering af neuronale celler gør dem til et værdifuldt værktøj i neurobiologisk forskning.

Organism Rotte

Tissue Binyrerne

Disease Fæokromocytom

Metastatic site Ikke relevant (feokromocytom i binyremarven; tumorens primære lokalisation er binyrerne)

Applications Neurobiologisk forskning; NGF-induceret neuronal differentiering; dopamin- og katekolaminfysiologi; neurosekretion; ionkanaler (calcium, natrium); farmakologi vedrørende neurotransmitterreceptorer; screening for neurobeskyttelse; modeller for Parkinsons sygdom

Synonyms PC 12, PC12

Karakteristika

Age Uspecificeret

PC-12-celler | 500311

Gender Mand

Ethnicity Japansk

Morphology Polygonal

Cell type Feokromocytomceller (neuroendokrine/kromaffinceller)

Growth properties Små klynger i suspension, dårligt klæbende, pletter på kollagen.

Regulatoriske data

Citation PC-12 (Cytion katalognummer 500311)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_S979

GMO Status Ingen genetisk modifikation; vildtype-cellekultur fra rotte med feokromocytom

Biomolekylære data

Receptors expressed Nervevækstfaktor (NGF)

Tumorigenic Yees, i New England Deaconess Hospital stamme rotter

Products Katekolaminer, dopamin

Karyotype 40 kromosomer, 38 autosomer plus xY

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

PC-12-celler | 500311

Dissociation Reagent TrypLE Express (adhærent på kollagen); pipetteringsopløsning til suspensionskultur

Subculturing Suspension af celler: Fjern celler fra substratet ved at pipettere med frisk medium. For at få enkeltceller skal du føre suspensionen flere gange gennem en 22 gauge-nål og fordele den i nye kolber. Dyrkning på kollagen: Brug følgende standardprotokol til at fjerne vedhæftede celler. 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), cellearket 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.

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 48 timer.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.

PC-12-celler | 500311

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Kollagen

Freezing Procedure

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

PC-12-celler | 500311

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 / Genetisk profil / HLA

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

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