

Κύτταρα P19 | 400416

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά P19, ένας τύπος πολυδύναμου εμβρυϊκού καρκινώματος, προέκυψε αρχικά από τερατοκαρκίνωμα σε ποντίκι του στελέχους C3H/He. Αυτή η κυτταρική σειρά που μοιάζει με επιθήλιο παρουσιάζει την ικανότητα να κλωνοποιείται με υψηλή επάρκεια όταν αναπτύσσεται σε μέσο που εγχέεται με 0,1mM β-μερκαπτοαιθανόλης. Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό των κυττάρων P19 είναι η προσαρμοστικότητα τους να διαφοροποιούνται σε νευρωνικά και γλοιακά κύτταρα όταν εκτίθενται σε ρετινοϊκό οξύ. Ταυτόχρονα, έχουν τη δυνατότητα να μετασχηματίζονται σε καρδιακό και σκελετικό μυ όταν εκτίθενται σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO). Όταν υποβάλλονται τόσο σε ρετινοϊκό οξύ όσο και σε DMSO, εμφανίζουν κυρίως χαρακτηριστικά διαφοροποίησης που προκαλείται από το ρετινοϊκό οξύ.

Η κυτταρική σειρά P19 προέρχεται από το ποντίκι (*Mus musculus*) και ανήκει στην ευρεία ταξινόμηση των Ευκαρυωτικών, Ζωικών, Μεταζωικών, Χορδωτών, Σπονδυλωτών και Τετράποδων. Τα κύτταρα ενσωματώνουν τη μορφολογία ενός τύπου επιθηλιακού ιστού που προέρχεται από το έμβρυο και συνδέονται με τη νόσο τερατοκαρκίνωμα. Χρησιμοποιούνται κυρίως σε εφαρμογές τρισδιάστατης κυτταροκαλλιέργειας εντός της κατηγορίας προϊόντων ζωικών κυττάρων.

Ενώ τα καρκινικά κύτταρα αποτελούν σημαντική απειλή για την υγεία λόγω της ταχείας και επιθετικής ανάπτυξής τους, προσφέρουν επίσης μια ανεκτίμητη πηγή για τους ερευνητές που μελετούν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων και αναζητούν πιο στοχευμένες θεραπείες. Το 1982, η κυτταρική σειρά P19 δημιουργήθηκε όταν ένα έμβρυο ποντικού 7,5 ημερών μεταμοσχεύθηκε σε έναν όρχι για να προκληθεί ανάπτυξη όγκου από τους McBurney και Rogers. Απομόνωσαν με επιτυχία κυτταρικές καλλιέργειες από τον πρωτογενή όγκο που περιείχαν αδιαφοροποίητα βλαστικά κύτταρα, τα οποία ονομάστηκαν κύτταρα εμβρυϊκού καρκινώματος P19. Τα κύτταρα αυτά επέδειξαν ταχεία ανάπτυξη χωρίς την ανάγκη για κύτταρα τροφοδότη και ήταν εύκολο να διατηρηθούν. Η επακόλουθη έγχυση σε βλαστοκύστες άλλου στελέχους ποντικού επιβεβαίωσε την πολυδυναμία των κυττάρων P19, καθώς στο ποντίκι-δέκτη αναπτύχθηκαν ιστοί και από τα τρία γεννητικά στρώματα.

Από τα αρχικά κύτταρα P19 έχουν προκύψει διάφορες κυτταρικές σειρές υποτύπων, συμπεριλαμβανομένων των P19S18, P19D3, P19RAC65 και P19C16. Κάθε ένας από αυτούς τους υπότυπους διαθέτει μοναδικές ικανότητες διαφοροποίησης σε νευρικά κύτταρα ή μυϊκά κύτταρα όταν υποβάλλονται σε θεραπεία με ρετινοϊκό οξύ ή DMSO, αντίστοιχα. Πιο πρόσφατες μελέτες έχουν δημιουργήσει κυτταρικές σειρές που προέρχονται από διαφοροποιημένα κύτταρα P19, τα οποία, λόγω της πολυδυναμίας των κυττάρων P19, μπορούν να μετασχηματιστούν σε κύτταρα που μοιάζουν με εκτόδερμα, μεσόδερμα και ενδοδερμικά.

Τα κύτταρα P19 είναι γνωστά για τη διαρκή ανάπτυξή τους σε μέσα που συμπληρώνονται με ορό. Η διαφοροποίησή τους μπορεί να ελεγχθεί αποτελεσματικά με τη χρήση μη τοξικών φαρμάκων, όπως το ρετινοϊκό οξύ, οδηγώντας στην ανάπτυξη νευρώνων, αstroyγλοίας και μικρογλοίας. Από την άλλη πλευρά, συσσωματώματα κυττάρων P19 που εκτίθενται σε DMSO διαφοροποιούνται σε ενδοδερμικά και μεσοδερμικά παράγωγα, συμπεριλαμβανομένων των καρδιακών και σκελετικών μυών. Τα κύτταρα P19 είναι επίσης επιδεκτικά διαμόλυνσης με DNA που κωδικοποιεί ανασυνδυασμένα γονίδια και μπορούν να απομονωθούν εύκολα σταθερές σειρές που εκφράζουν αυτά τα γονίδια. Αυτή η προσαρμοστικότητα και η ευελιξία καθιστούν τα κύτταρα P19 εξαιρετική πηγή για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν τις αναπτυξιακές αποφάσεις των διαφοροποιούμενων πολυδύναμων κυττάρων.

Organism Ποντίκι

Tissue Όρχις

Κύτταρα P19 | 400416

Disease Τερατοκαρκίνωμα

Synonyms P-19

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies C3H/He

Gender Άντρας

Morphology Ινοβλάστες που μοιάζουν με ινοβλάστες

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation P19 (αριθμός καταλόγου Cytion 400416)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_2153

Βιομοριακά δεδομένα

Karyotype N = 40, xY

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Κύτταρα P19 | 400416

Subculturing Αφαιρέστε το μέσο και ξεπλύνετε τα προσκολλημένα κύτταρα χρησιμοποιώντας PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (3-5 ml PBS για φιάλες κυτταροκαλλιέργειας T25, 5-10 ml για φιάλες κυτταροκαλλιέργειας T75). Προσθέστε TrypleExpress (1-2ml ανά φιάλη κυτταροκαλλιέργειας T25, 2,5ml ανά φιάλη κυτταροκαλλιέργειας T75), το φύλλο κυττάρων πρέπει να καλυφθεί πλήρως. Επώαση στους 37 βαθμούς Κελσίου για 10 λεπτά. Ανασυσσωματώστε προσεκτικά τα κύτταρα, η προσθήκη μέσου είναι προαιρετική αλλά όχι απαραίτητη, και διανείμετε σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο. Μην αφήσετε τα κύτταρα να παραμείνουν συνεκτικά. Υποκαλλιέργεια τουλάχιστον κάθε 48 ώρες.

Seeding density Υποκαλλιέργεια τουλάχιστον κάθε 48 ώρες

Fluid renewal Κάθε 2 ημέρες

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα P19 | 400416

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα P19 | 400416

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.