

Κύτταρα PC-12 | 500311

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα PC-12 είναι μια κυτταρική σειρά που προέρχεται από ένα φαιοχρωμοκύττωμα του μυελού των επινεφριδίων αρουραίου. Τα κύτταρα αυτά είναι εμβρυϊκής προέλευσης, αναπτύσσονται προσκολλημένα και μοιάζουν με μείγμα νευροβλαστικών και ηωσινόφιλων κυττάρων. Τα κύτταρα PC-12 είναι κύτταρα κατεχολαμινών που συνθέτουν, αποθηκεύουν και απελευθερώνουν νορεπινεφρίνη και ντοπαμίνη. Έχουν διάμετρο περίπου 10-12 μικρά και είναι μικρά, ακανόνιστου σχήματος κύτταρα. Η κυτταρική σειρά PC12 είναι ένα κλασικό μοντέλο νευρωνικών κυττάρων λόγω της ικανότητάς της να αποκτά χαρακτηριστικά συμπαθητικού νευρώνα όταν έχει να κάνει με τον αυξητικό παράγοντα των νευρών (NGF).

Μελέτες σχετικά με τη ρύθμιση της ντοπαμίνης έχουν δείξει ότι τα κύτταρα PC12 συνθέτουν, απελευθερώνουν και επαναπροσλαμβάνουν ντοπαμίνη και έχουν χαρακτηριστεί εκτενώς ως προς τη νευροεκκριτική ικανότητα και την παρουσία διαύλων ιόντων και υποδοχέων νευροδιαβιβαστών. Επιπλέον, η σχετική αναλογία των διαφόρων υποτύπων καναλιών Ca αλλάζει κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης. Η κυτταρική σειρά PC12 είναι ένα καθιερωμένο μοντέλο νευρωνικών κυττάρων που είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για τη μελέτη των κυτταρικών αποκρίσεων στους παράγοντες νευρικής ανάπτυξης (NGF) και τον τρόπο με τον οποίο αυτές οδηγούν στην έκφραση πρωτεϊνών ειδικών για τη διαφοροποίηση και τη διαφοροποίηση. Όταν καλλιεργούνται σε NGF, τα κύτταρα PC12 διαφοροποιούνται μορφολογικά και λειτουργικά σε νευρώνες συμπαθητικού γαγγλίου. Η διαφοροποίηση προκύπτει από την αντιστρεπτή επαγωγή ενός νευρωνικού φαινότυπου από τον NGF. Η επίστρωση κολλαγόνου έχει αποδειχθεί ότι ευνοεί την επίτευξη νευρωνικών χαρακτηριστικών όσον αφορά το μήκος και την πυκνότητα των νευριτών με τη θεραπεία με NGF.

Τα κύτταρα PC12 είναι καρκινικά και προέρχονται από αρσενικούς αρουραίους του New England Deaconess Hospital. Η κυτταρική σειρά PC-12 έχει 40 χρωμοσώματα, 38 αυτοσωμικά, καθώς και XY. Ο αυξητικός παράγοντας των νευρών (NGF) εκφράζεται στα κύτταρα PC12 και η έκθεση στον NGF είναι ένας κρίσιμος ρυθμιστής της κυτταρικής διαφοροποίησης.

Συμπερασματικά, τα κύτταρα PC12 είναι ένα ευέλικτο και ευρέως χρησιμοποιούμενο σύστημα μοντέλου στη νευροβιολογία λόγω της ικανότητάς τους να αποκτούν χαρακτηριστικά συμπαθητικού νευρώνα όταν έχουν να κάνουν με τον νευρικό αυξητικό παράγοντα (NGF). Τα κύτταρα αυτά έχουν χαρακτηριστεί εκτενώς ως προς τη νευροεκκριτική ικανότητα, τους διαύλους ιόντων και τους υποδοχείς νευροδιαβιβαστών. Η εξαιρετική ευελιξία τους για φαρμακολογικές δοκιμές και η χρήση τους ως καθιερωμένου μοντέλου για τη μελέτη του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των νευρωνικών κυττάρων τα καθιστούν πολύτιμο εργαλείο στη νευροβιολογική έρευνα.

Organism	Αρουραίος
Tissue	Επινεφρίδιος αδένας
Disease	Φαιοχρωμοκύττωμα
Synonyms	PC 12, PC12

Χαρακτηριστικά

Age	Απροσδιόριστο
------------	---------------

Κύτταρα PC-12 | 500311

Gender Άντρας

Ethnicity Ιαπωνικά

Morphology Πολυγωνικό

Growth properties Μικρές συστάδες σε εναιώρημα, ελάχιστα προσκολλημένες, κηλίδες στο κολλαγόνο.

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation PC-12 (αριθμός καταλόγου Cytion 500311)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_S979

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed Παράγοντας νευρικής ανάπτυξης (NGF)

Tumorigenic Ναι, σε αρουραίους του Νοσοκομείου New England Deaconess

Products Κατεχολαμίνες, ντοπαμίνη

Karyotype 40 χρωμοσώματα, 38 αυτοσώματα συν XY

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Κύτταρα PC-12 | 500311

Subculturing Κύτταρα εναιωρήματος: Αφαιρέστε τα κύτταρα από το υπόστρωμα με σιφώνιο με φρέσκο μέσο. Για να λάβετε μεμονωμένα κύτταρα, περάστε το εναιώρημα αρκετές φορές από βελόνα 22 gauge και διανείμετε το εναιώρημα σε νέες φιάλες. Καλλιέργεια σε κολλαγόνο: Για την απομάκρυνση των προσκολλημένων κυττάρων, χρησιμοποιήστε το ακόλουθο τυποποιημένο πρωτόκολλο. 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 καλύπτεται 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.

Seeding density 1×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 48 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε 50% βασικό μέσο + 40% FBS + 10% DMSO 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 PC-12 | 500311**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

Κολλαγόνο

**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 PC-12 | 500311

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Η αποθήκευση στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.