

P19 rakud | 400416

Üldine teave

Description

P19 rakuliin, mis on pluripotentsse embrüonaalse kartsinoomi tüüp, saadi algselt C3H/He-tüve hiire teratokartsinoomist. See epiteelilaadne rakuliin näitab võimet kloonida suure võimsusega, kui seda kasvatatakse 0,1 mM β -merkaptopetanoliga infundeeritud keskkonnas. P19 rakkude märkimisväärne omadus on nende kohanemisvõime diferentseeruda neuron- ja gliarakkudeks, kui nad puutuvad kokku retinoinihappega. Samal ajal on neil potentsiaal muunduda südame- ja skeletilihaseks, kui nad puutuvad kokku dimetüülsulfoksiidiga (DMSO). Kui nad allutatakse nii retinoehappele kui ka DMSO-le, ilmutavad nad valdavalt retinoehappest tingitud diferentseerumise tunnuseid.

P19 rakuliin on pärit hiirest (*Mus musculus*) ja kuulub laiasse klassifikatsiooni Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata ja Tetrapod. Need rakud kehastavad embrüost pärineva epiteeli tüüpi koe morfoloogiat ja neid seostatakse teratokartsinoomiga. Neid kasutatakse peamiselt 3D-rakukultuuride rakendustes loomsete rakkude tootekategoorias.

Kuigi vähirakud kujutavad oma kiire ja agressiivse kasvu tõttu märkimisväärset ohtu tervisele, pakuvad nad ka hindamatut ressursi teadlastele, kes uurivad vähirakkude arengut ja otsivad sihipärasemaid ravimeetodeid. 1982. aastal loodi rakuliin P19, kui McBurney ja Rogers siirdasid 7,5 päeva kestnud hiire embrüo munandisse, et esile kutsuda kasvaja kasvu. Nad isoleerisid edukalt rakukultuurid primaarsest kasvajast, mis sisaldasid diferentseerimata tüvirakke, mida nimetati embrüonaalseks kartsinoomiks P19 rakkudeks. Need rakud näitasid kiiret kasvu ilma toitjarakkude vajaduseta ja neid oli lihtne hooldada. Järgnev süstimine teise hiiretüve blastotsüstidesse kinnitas P19 rakkude multipotentsust, sest kõigi kolme sugukihi koed kasvasid retsipientide hiirtel.

Esialgsetest P19 rakkudest on saadud mitu alatüüpi rakuliini, sealhulgas P19S18, P19D3, P19RAC65 ja P19C16. Igal neist alatüüpidest on unikaalne diferentseerumise võime neuronirakkudeks või lihasrakkudeks, kui neid töödeldakse vastavalt retinoinihappe või DMSO-ga. Hilisemates uuringutes on loodud diferentseeritud P19 rakkudest saadud rakuliinid, mis tänu P19 rakkude pluripotentsusele võivad muunduda ektoderma, mesoderma ja endoderma sarnasteks rakkudeks.

P19 rakud on tuntud oma püsiva kasvu poolest seerumiga täiendatud keskkonnas. Nende diferentseerumist saab tõhusalt kontrollida mittetoksiliste ravimite, näiteks retinoinihappe abil, mis viib neuronite, astroglia ja mikroglia arenguni. Teisest küljest diferentseeruvad DMSO-ga eksponeeritud P19 rakkude kogumid endodermiaalseteks ja mesodermiaalseteks derivaatideks, sealhulgas südame- ja skeletilihaseks. P19 rakke on võimalik transfekteerida rekombinantseid gene kodeeriva DNA-ga ja neid gene ekspresseerivaid stabiilseid liine on võimalik mugavalt isoleerida. Selline plastilisus ja mitmekülgsus teevad P19 rakkudest suurepärase ressursi, et uurida molekulaarseid mehhanisme, mis reguleerivad diferentseeruvate pluripotentsete rakkude arengulisi otsuseid.

Organism Hiir

Tissue Testis

Disease Teratokartsinoom

Synonyms P-19

P19 rakud | 400416

Omadused

Breed/Subspecies	C3H/He
Gender	Mees
Morphology	Fibroblastilaadsed
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	P19 (Cytioni katalooginumber 400416)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_2153

Biomolekulaarsed andmed

Karyotype	N = 40, xY
------------------	------------

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820400a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Eemaldage keskkond ja loputage kinni jäänud rakud, kasutades PBS-i ilma kaltsiumi ja magneesiumita (3-5 ml PBS-i T25, 5-10 ml T75 rakukultuurikolbide puhul). Lisage TrypleExpress (1-2 ml T25, 2,5 ml T75 rakukultuurikolbi kohta), rakukile peab olema täielikult kaetud. Inkubeerige 37 kraadi juures 10 minutit. Resuspenseerige rakud ettevaatlikult, söötme lisamine on vabatahtlik, kuid mitte vajalik, ja doseerige uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötme. Ärge laske rakkudel jääda konfluentseks. Subkultuurida vähemalt iga 48 tunni järel.

P19 rakud | 400416**Split ratio** Soovitav on suhe 1:10**Seeding density** Subkultuur vähemalt iga 48 tunni järel**Fluid renewal** Iga 2 päeva tagant**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.**Flask Coating** Puudub

P19 rakud | 400416

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

Amelogenin: x,x