Product sheet

PC-12 rakud | 500311

Üldine teave

Description	PC-12 rakud on rakuliin, mis on saadud roti neerupealise medulla feokromotsütoomist. Need rakud on embrüonaalse päritoluga, kasvavad adherentselt ja sarnanevad neuroblastiliste ja eosinofiilsete rakkude seguga. PC-12 rakud on katehhoolamiinirakud, mis sünteesivad, ladustavad ja vabastavad noradrenaliini ja dopamiini. Nende läbimõõt on ligikaudu 10-12 mikronit ja nad on väikesed, ebakorrapärase kujuga rakud. PC12 rakuliin on klassikaline neuronaalne rakumudel, kuna see on võimeline omandama sümpaatilise neuroni omadused närvi kasvufaktoriga (NGF) tegelemisel. Dopamiini reguleerimise uuringud on näidanud, et PC12 rakud sünteesivad, vabastavad ja võtavad dopamiini tagasi ning neid on põhjalikult iseloomustatud neurosekretsiooni ja ioonikanalite ning neurotransmitteriretseptorite olemasolu osas. Lisaks sellele muutub diferentseerumise käigus erinevate Ca-kanalite alatüüpide suhteline osakaal. PC12 rakuliin on väljakujunenud neuronaalne rakumudel, mis on eriti kasulik selleks, et uurida rakkude reaktsioone närvi kasvufaktoritele (NGF) ja seda, kuidas need viivad diferentseerumisspetsiifiliste valkude ekspressiooni ja diferentseerumiseni. Kui PC12 rakke kasvatatakse NGFis, diferentseeruvad need morfoloogiliselt ja funktsionaalselt sümpaatilise ganglioni neuroniteks. Diferentseerumine tuleneb neuronaalse fenotüübi pöörduvast indutseerimisest NGF-i poolt. On näidatud, et kollageeniga katmine soodustab neuroni omaduste saavutamist neuriitide pikkuse ja tiheduse osas NGF-ravi korral. PC12 rakud on tumorigeensed ja need on saadud New England Deaconess Hospital'i tüve isasrottidest. PC-12 rakuliinil on 40 kromosoomi, 38 autosoomi ja xY. Närvi kasvufaktor (NGF) ekspresseerub PC12 rakkudes ja kokkupuude NGF-iga on üks oluline rakkude diferentseerumise regulaator. Kokkuvõtteks võib öelda, et PC12 rakud on neurobioloogias mitmekülgne ja laialdaselt kasutatav mudelisüsteem tänu nende võimele omandada närvi kasvufaktoriga (NGF) tegelemisel sümpaatiliste neuronite omadusi. Neid rakke on ulatuslikult iseloomustatud neurosekretsiooni, ioonikanalite ja neurotransmitteriretseptorite osas. Nende äärmine mitmekülgsus farmakoloogilisteks testideks ja kasutamine väljakujunenud mudelina neuronaalsete rakkude proliferatsiooni ja diferentseerumise uurimiseks teeb neist väärtusliku vahendi neurobioloogilistes uuringutes.
Organism	Rott
Tissue	Neerupealise nääre
Disease	Feokromotsütoom
Metastatic site	Ei kohaldata (neerupealise medulla feokromotsütoom; kasvaja esmane asukoht on neerupeal)
Applications	Neurobioloogia alased uuringud; NGF-i poolt indutseeritud neuronite diferentseerumine; dopamiini ja katehhoolamiinide füsioloogia; neurosekretsioon; ioonikanalid (kaltsium, naatrium); neurotransmitterite retseptorite farmakoloogia; neuroprotektsiooni sõelumine; Parkinsoni tõve mudelid
Synonyms	PC 12, PC12

Omadused

Product sheet

PC-12 rakud | 500311

Age	Täpsustamata
Gender	Mees
Ethnicity	Jaapani
Morphology	Polügonaalne
Cell type	Feokromotsütoomi rakud (neuroendokriinsed/kromafiinsed)
Growth properties	Adherentne/suspensioon (kasvab kollageeniga kaetud pindadel adherentse rakuna; moodustab ka suspensiooniklastereid)

Regulatiivsed andmed

Citation	PC-12 (Cytioni kataloginumber 500311)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_S979
GMO Status	Geneetiliselt muundamata; loodusliku tüüpi roti feokromotsütoomi rakuliin

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Närvi kasvufaktor (NGF)
Tumorigenic	Jah, New England Deaconess Hospitali tüve rottidel
Products	Katehhoolamiin, dopamiin
Karyotype	40 kromosoomi, 38 autosoomi pluss xY

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)

PC-12 rakud | 500311

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	TrypLE Express (kinnitub kollageenile); pipeteerimiseks mõeldud resuspensioon suspensioonikultuuri jaoks
Subculturing	Suspensioni rakud: Eemaldage rakud substraadilt, pipeteerides värske söötmega. Üksikute rakkude saamiseks passeerige suspensioon mitu korda läbi 22 gabariitnõela ja doseerige see uutesse kolvidesse. Kasvamine kollageenil: Kinnikiindunud rakkude eemaldamiseks kasutage järgmist standardprotokolli. Eemaldage keskkond ja loputage kleepunud rakud kaltsiumi- ja magneesiumivaba PBS-ga (3-5 ml PBS 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.
Seeding density	1 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x $10^{4\ rakku}$/cm^2 ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 48 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

PC-12 rakud | 500311

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Kollageen
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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
STR-profiil	**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