

## P19-solut | 400416

## Yleisiä tietoja

## Description

P19-solulinja, joka on eräänlainen pluripotentti alkion karsinooma, saatiin alun perin C3H/He-kannan hiiren teratokarsinoomasta. Tämä epiteelin kaltainen solulinja kykenee kloonamaan erittäin tehokkaasti, kun sitä kasvatetaan 0,1 mM  $\beta$ -merkaptoetanolina sisältävässä väliaineessa. P19-solujen merkittävä piirre on niiden sopeutumiskyky erilaistua hermo- ja gliasoluiksi, kun ne altistetaan retinohapolle. Samanaikaisesti niillä on mahdollisuus muuntua sydän- ja luurankolihasiksi, kun ne altistetaan dimetyylisulfoksidille (DMSO). Kun ne altistetaan sekä retinohapolle että DMSO:lle, niillä on pääasiassa retinohapon aiheuttaman erilaistumisen piirteitä.

P19-solulinja on peräisin hiirestä (*Mus musculus*), ja se kuuluu laajaan luokitukseen Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata ja Tetrapod. Solut ilmentävät alkioista peräisin olevan epiteelikudostyyppin morfologiaa, ja niihin liittyy teratokarsinooma. Niitä käytetään ensisijaisesti 3D-soluviljelysovelluksissa tuoteryhmässä eläinsolut.

Vaikka syöpäsolut ovat merkittävä terveysuhka niiden nopean ja aggressiivisen kasvun vuoksi, ne tarjoavat myös korvaamattoman resurssin tutkijoille, jotka tutkivat syöpäsolujen kehitystä ja etsivät kohdennettumia hoitoja. Vuonna 1982 McBurney ja Rogers loivat P19-solulinjan, kun 7,5 päivän ikäinen hiiren alkio siirrettiin kivekseen kasvaimen kasvun aikaansaamiseksi. He onnistuivat eristämään primaarikasvaimesta soluviljelmiä, jotka sisälsivät erilaistumattomia kantasoluja, joita kutsuttiin alkion karsinooman P19-soluiksi. Nämä solut osoittivat nopeaa kasvua ilman syöttösoluja, ja niitä oli helppo ylläpitää. P19-solujen monikyky vahvistui, kun ne injektointiin myöhemmin toisen hiirikannan blastokystiin, sillä kudokset kaikista kolmesta sukukerroksesta kasvoivat vastaanottavassa hiiressä.

Alkuperäisistä P19-soluista on johdettu useita alatyypin solulinjoja, kuten P19S18, P19D3, P19RAC65 ja P19C16. Kullakin näistä alatyypeistä on ainutlaatuinen kyky erilaistua hermosoluiksi tai lihassoluiksi, kun niitä käsitellään retinohapolla tai DMSO:lla. Uudemmissa tutkimuksissa on tuotettu erilaistuneista P19-soluista johdettuja solulinjoja, jotka P19-solujen pluripotenttiuden ansiosta voivat muuntua ektodermiksi, mesodermiksi ja endodermin kaltaisiksi soluiksi.

P19-solut ovat tunnettuja jatkuvasta kasvustaan seerumilla täydennetyssä väliaineessa. Niiden erilaistumista voidaan hallita tehokkaasti käyttämällä myrkyttömiä lääkeaineita, kuten retinohappoa, mikä johtaa neuronien, astroglan ja mikroglan kehittymiseen. Toisaalta DMSO:lle altistettujen P19-solujen aggregaatit erilaistuvat endodermisiksi ja mesodermisiksi johdannaisiksi, mukaan lukien sydän- ja luurankolihas. P19-soluja voidaan myös transfektoida rekombinantteja geenejä koodaavalla DNA:lla, ja näitä geenejä ilmentäviä stabiileja linjoja voidaan helposti eristää. Tämä muokattavuus ja monipuolisuus tekevät P19-soluista erinomaisen resurssin niiden molekyylimekanismien tutkimiseen, jotka ohjaavat erilaistuvien pluripotenttien solujen kehityspäätöksiä.

**Organism** Hiiri

**Tissue** Kivekset

**Disease** Teratokarsinooma

**Synonyms** P-19

## P19-solut | 400416

## Ominaisuudet

<b>Breed/Subspecies</b>	C3H/He
<b>Gender</b>	Mies
<b>Morphology</b>	Fibroblastien kaltaiset
<b>Growth properties</b>	Tarttuva

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	P19 (Cytionin luettelonumero 400416)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_2153

## Biomolekyyli tiedot

<b>Karyotype</b>	N = 40, xY
------------------	------------

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820400a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

**Subculturing** Poista väliaine ja huuhtelee kiinni olevat solut PBS:llä, jossa ei ole kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml PBS:ää T25-soluviljelypulloissa, 5-10 ml T75-soluviljelypulloissa). Lisää TrypleExpressiä (1-2 ml T25-soluviljelypulloa kohti, 2,5 ml T75-soluviljelypulloa kohti), solulevyn on peitettävä kokonaan. Inkuboidaan 37 asteessa 10 minuuttia. Resuspendoi solut varovasti, väliaineen lisääminen on vapaaehtoista mutta ei välttämätöntä, ja annostelet ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliainetta. Solut eivät saa jäädä juokseviksi. Subkultivoidaan vähintään 48 tunnin välein.

**P19-solut | 400416****Split ratio** Suositeltava suhde on 1:10**Seeding density** Alakulttuuri vähintään 48 tunnin välein**Fluid renewal** 2 päivän välein**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, kostutettu ilmakehä.

**P19-solut | 400416**

**Flask Coating**      Ei mitään

**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage Conditions**

Pitkäaikais säilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

**Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**

**Sterility**

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

**STR-profiili**

**Amelogenin:** x,x