Product sheet

PC-12-solut | 500311

Yleisiä tietoja

Description	PC-12-solut ovat rotan lisämunuaisydinytimen feokromosytoomasta peräisin oleva solulinja. Nämä solut ovat alkioperäisiä, ne kasvavat kiinni ja muistuttavat neuroblastisten ja eosinofiilisten solujen sekoitusta. PC-12-solut ovat katekoliamiinisoluja, jotka syntetisoivat, varastoivat ja vapauttavat noradrenaliinia ja dopamiinia. Niiden halkaisija on noin 10-12 mikronia ja ne ovat pieniä, epäsäännöllisen muotoisia soluja. PC12-solulinja on klassinen hermosolumalli, koska se kykenee hankkimaan sympaattisen hermosolun piirteitä, kun sitä käsitellään hermokasvutekijän (NGF) kanssa. Dopamiinin säätelyä koskevat tutkimukset ovat osoittaneet, että PC12-solut syntetisoivat, vapauttavat ja ottavat takaisin dopamiinia, ja niitä on luonnehdittu laajasti hermosekretion sekä ionikanavien ja välittäjäainereseptorien esiintymisen osalta. Lisäksi Ca-kanavien eri alatyyppien suhteellinen osuus muuttuu erilaistumisen aikana. PC12-solulinja on vakiintunut hermosolumalli, joka on erityisen hyödyllinen tutkittaessa solujen vasteita hermokasvutekijöille (NGF) ja sitä, miten nämä johtavat erilaistumispesifisten proteiinien ilmentymiseen ja erilaistumiseen. Kun PC12-soluja viljellään NGF:ssä, ne erilaistuvat morfologisesti ja toiminnallisesti sympaattisen ganglionin neuroneiksi. Erilaistuminen on seurausta NGF:n aiheuttamasta neuronaalisen fenotyypin palautuvasta induktiosta. Kollageenipinnoitteen on osoitettu olevan suotuisa neuronionominaisuuksien saavuttamiselle neuriittien pituuden ja tiheyden suhteen NGF-hoidon avulla. PC12-solut ovat tumorigeenisiä, ja ne on saatu urospuolisista New England Deaconess Hospital -kannan rotista. PC-12-solulinjalla on 40 kromosomia, 38 autosomia sekä xY. Hermokasvutekijä (NGF) ilmentyy PC12-soluissa, ja altistuminen NGF:lle on yksi solujen erilaistumisen ratkaiseva säätelijä. Yhteenvetona voidaan todeta, että PC12-solut ovat monipuolinen ja laajalti käytetty mallijärjestelmä neurobiologiassa, koska ne kykenevät hankkimaan sympaattisen neuronin piirteitä käsitellessään hermokasvutekijää (NGF). Näille soluille on laajalti luonnehdittu hermosekretiota, ionikanavia ja välittäjäaineiden reseptoreita. Niiden äärimmäinen monipuolisuus farmakologisissa testeissä ja käyttö vakiintuneena mallina hermosolujen proliferaation ja erilaistumisen tutkimisessa tekevät niistä arvokkaan välineen neurobiologisessa tutkimuksessa.
Organism	Rotta
Tissue	Lisämunuainen
Disease	Feokromosytooma
Metastatic site	Ei sovelleta (lisämunuaisen ytimen feokromosytooma; primaarinen kasvain sijaitsee lisämunuaisessa)
Applications	Neurobiologian tutkimus; NGF:n indusoima hermosolujen erilaistuminen; dopamiinin ja katekoliamiinien fysiologia; neurosekretio; ionikanavat (kalsium, natrium); välittäjäaineiden reseptorien farmakologia; neuroprotektiivisten aineiden seulonta; Parkinsonin taudin mallit
Synonyms	PC 12, PC12

Ominaisuudet

Product sheet

PC-12-solut | 500311

Age	Määrittelemätön
Gender	Mies
Ethnicity	Japanilainen
Morphology	Polygonal
Cell type	Feokromosytoomasolut (neuroendokriiniset/kromaffinisolut)
Growth properties	Kiinnittyvä/Suspensio (kasvaa kollageenilla päällystetyillä pinnoilla kiinnittyvänä; muodostaa myös suspensioklustereita)

Sääntelytiedot

Citation	PC-12 (Cytionin luettelonumero 500311)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_S979
GMO Status	Ei geneettisesti muunnettu; villityyppinen rotan feokromosytoomasolulinja

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Hermojen kasvutekijä (NGF)
Tumorigenic	Kyllä, New England Deaconess Hospitalin kannassa rotilla, -
Products	Katekoliamiinit, dopamiini
Karyotype	40 kromosomia, 38 autosomia ja xY-kromosomit

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)

PC-12-solut | 500311

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	TrypLE Express (kiinnittyy kollageeniin); pipetointiliuos suspensiokulttuuria varten
Subculturing	Suspension solut: Poista solut alustasta pipetoimalla tuoreeseen väliaineeseen. Yksittäisten solujen saamiseksi suspensio ohjataan useita kertoja 22-ulotteisen neulan läpi ja annostellaan uusiin pulloihin. Kasvatus kollageenin päällä: Käytetään seuraavaa standardiprotokollaa tarttuvien solujen poistamiseksi. Poistetaan väliaine ja huuhdellaan 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 annostele ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.
Seeding density	1×10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm^2 ja anna solujen toipua jäädyttämisprosessista ja kiinnittyä vähintään 48 tunnin ajan.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

PC-12-solut | 500311

Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Kollageeni
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.
STR-profiili	**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