

PC-12-solut | 500311

Yleisiä tietoja

Description

PC-12-solut ovat rotan lisämunuaisydintimen feokromosytoomasta peräisin oleva solulinja. Nämä solut ovat alkiooperäisiä, 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 alatyypin 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 neuroniominaisuuksien saavuttamiselle neurittien 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 neurobiologian tutkimuksessa.

Organism	Rotta
Tissue	Lisämunuainen
Disease	Feokromosytooma
Synonyms	PC 12, PC12

Ominaisuudet

Age	Määrittelemätön
Gender	Mies
Ethnicity	Japanilainen

PC-12-solut | 500311

Morphology Polygonal**Growth properties** Pieniä klustereita suspensiossa, heikosti kiinnittyneitä, laikkuja kollageenin päällä.**Säätelytiedot****Citation** PC-12 (Cytionin luettelonumero 500311)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_S979**Biomolekyyli tiedot****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)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**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 annostelet ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.

PC-12-solut | 500311

Seeding density 1 x 10⁴ solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10⁴ solua/cm² 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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä 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 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

PC-12-solut | 500311

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 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 määrittäyksillä 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