

## P19 sejtek | 400416

### Általános információk

#### Description

A P19 sejtvonulat, a pluripotens embrionális karcinóma egyik típusát eredetileg C3H/He törzsű egérben kialakult teratocarcinómából nyerték. Ez az epitéliszzerű sejtvonulat nagy hatékonysággal képes klónozni, ha 0,1 mM  $\beta$ -merkaptotetanollal infundált táptalajban tenyésztik. A P19 sejtek figyelemre méltó jellemzője, hogy retinsav hatására képesek neuronális és gliasejteké differenciálódni. Ezzel egyidejűleg képesek szív- és vázizommá alakulni, ha dimetil-szulfoxidnak (DMSO) vannak kitéve. Retinsavnak és DMSO-nak egyaránt kitéve túlnyomórészt a retinsav indukálta differenciálódás jellemzőit mutatják.

A P19 sejtvonulat az egérből (*Mus musculus*) származik, és az Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata és Tetrapoda széles körű osztályozásába tartozik. A sejtek az embrióból származó epithelialis szövettípus morfológiáját testesítik meg, és a teratocarcinoma betegséggel hozhatók összefüggésbe. Elsősorban 3D-s sejttenyésztési alkalmazásokban használják őket az állati sejtek termék kategóriáján belül.

Miközben a rákos sejtek gyors és agresszív növekedésük miatt jelentős egészségügyi veszélyt jelentenek, felbecsülhetetlen értékű erőforrást jelentenek a rákos sejtek fejlődését tanulmányozó és célzottabb kezelést kereső kutatók számára is. A P19 sejtvonulat 1982-ben hozták létre, amikor McBurney és Rogers egy 7,5 napos egérembriót ültetett át egy herébe, hogy tumoros növekedést indukáljon. Sikeresen izoláltak sejt kultúrákat a primer tumorból, amelyek differenciálatlan őssejteket tartalmaztak, ezeket nevezték el embriókarcinóma P19 sejteknek. Ezek a sejtek gyors növekedést mutattak feeder sejtek nélkül, és könnyen fenntarthatók voltak. Egy másik egértörzs blasztocisztáiba történő későbbi befecskendezés megerősítette a P19 sejtek multipotenciáját, mivel a recipiens egérben mindhárom csírarétegből származó szövetek növekedtek.

Az eredeti P19 sejtekből számos altípusú sejtvonulatot származtattak, köztük a P19S18, P19D3, P19RAC65 és P19C16 sejteket. Ezen altípusok mindegyike egyedi differenciálódási képességgel rendelkezik neuronális sejtekké vagy izomsejtekké, ha retinsavval vagy DMSO-val kezelik őket. Újabb tanulmányokban differenciált P19 sejtekből származó sejtvonulatokat hoztak létre, amelyek a P19 sejtek pluripotenciájának köszönhetően képesek ektoderma, mezoderma és endoderma-szerű sejtekké alakulni.

A P19 sejtek arról ismertek, hogy szérummal kiegészített közegben tartósan növekednek. Differenciálódásuk nem toxikus gyógyszerekkel, például retinsavval hatékonyan szabályozható, ami neuronok, asztroglia és mikroglia kialakulásához vezet. Másrészt a DMSO-nak kitétt P19 sejtek aggregátumai endodermális és mezodermális származékokká differenciálódnak, beleértve a szív- és vázizmot is. A P19 sejtek rekombináns géneket kódoló DNS-sel történő transzfeccióra is alkalmasak, és az ilyen géneket expresszáló stabil vonalak kényelmesen izolálhatók. Ez az alakíthatóság és sokoldalúság teszi a P19 sejteket kiváló forrássá a differenciálódó pluripotens sejtek fejlődési döntéseit irányító molekuláris mechanizmusok feltárására.

**Organism** Egér

**Tissue** Herék

**Disease** Teratocarcinoma

**Synonyms** P-19

### Jellemzők

**P19 sejtek | 400416****Breed/Subspecies** C3H/He**Gender** Férfi**Morphology** Fibroblaszt-szerű**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** P19 (Cytion katalógusszám 400416)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_2153**Biomolekuláris adatok****Karyotype** N = 40, xY**A kezelése****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion 820400a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a tápfolyadékot, és öblítse le a megtapadt sejteket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 sejtenyésző lombikok esetében). Adjunk hozzá TrypleExpress-t (1-2ml T25-ös, 2,5ml T75-ös sejtenyésző lombikban), a sejtlapot teljesen be kell fednie. Inkubáljuk 37 Celsius-fokon 10 percig. Óvatosan reszuszpendálja a sejteket, a tápfolyadék hozzáadása opcionális, de nem szükséges, és adagolja új lombikokba, amelyek friss tápfolyadékot tartalmaznak. Ne hagyjuk, hogy a sejtek konfluensek maradjanak. Legalább 48 óránként szubkultúrázzon.**Split ratio** Az 1:10 arányt javasoljuk

**P19 sejtek | 400416**

**Seeding density** Legalább 48 óránként szubkultúra

**Fluid renewal** 2 naponta

**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation Atmosphere**  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating** Nincs

## P19 sejtek | 400416

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül  $-150$  és  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

### STR profil

**Amelogenin:** x,x