

Cellule P19 | 400416

Informazioni generali

Description

La linea cellulare P19, un tipo di carcinoma embrionale pluripotente, è stata inizialmente ottenuta da un teratocarcinoma in un topo del ceppo C3H/He. Questa linea cellulare di tipo epiteliale mostra la capacità di clonare ad alta efficienza quando viene coltivata in un terreno infuso con 0,1mM di β -mercaptoetanololo. Una caratteristica notevole delle cellule P19 è la loro adattabilità a differenziarsi in cellule neuronali e gliali quando sono esposte all'acido retinoico. Allo stesso tempo, hanno il potenziale di trasformarsi in muscolo cardiaco e scheletrico quando sono esposte a dimetilsolfossido (DMSO). Quando sono sottoposte sia all'acido retinoico che al DMSO, mostrano prevalentemente le caratteristiche della differenziazione indotta dall'acido retinoico.

La linea cellulare P19 ha origine nel topo (*Mus musculus*) e appartiene all'ampia classificazione di Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata e Tetrapod. Queste cellule presentano la morfologia di un tessuto epiteliale derivato dall'embrione e sono associate alla malattia del teratocarcinoma. Sono utilizzate principalmente in applicazioni di coltura cellulare 3D all'interno della categoria di prodotti delle cellule animali.

Se da un lato le cellule tumorali rappresentano una minaccia significativa per la salute a causa della loro crescita rapida e aggressiva, dall'altro offrono una risorsa inestimabile per i ricercatori che studiano lo sviluppo delle cellule tumorali e cercano trattamenti più mirati. Nel 1982, McBurney e Rogers hanno creato la linea cellulare P19 trapiantando un embrione di topo di 7,5 giorni in un testicolo per indurre la crescita del tumore. Essi hanno isolato con successo colture cellulari dal tumore primario contenenti cellule staminali indifferenziate, denominate cellule di carcinoma embrionale P19. Queste cellule hanno dimostrato una crescita rapida senza bisogno di cellule di alimentazione e sono state facili da mantenere. La successiva iniezione in blastocisti di un altro ceppo di topo ha confermato la multipotenza delle cellule P19, poiché nel topo ricevente sono cresciuti tessuti di tutti e tre gli strati germinali.

Dalle cellule P19 originali sono state derivate diverse linee cellulari sottotipo, tra cui P19S18, P19D3, P19RAC65 e P19C16. Ognuno di questi sottotipi possiede capacità differenziative uniche in cellule neuronali o muscolari quando vengono trattate con acido retinoico o DMSO, rispettivamente. Studi più recenti hanno generato linee cellulari derivate da cellule P19 differenziate che, grazie alla pluripotenza delle cellule P19, possono trasformarsi in cellule simili all'ectoderma, al mesoderma e all'endoderma.

Le cellule P19 sono note per la loro crescita sostenuta in mezzi di coltura integrati con siero. La loro differenziazione può essere controllata efficacemente utilizzando farmaci non tossici come l'acido retinoico, portando allo sviluppo di neuroni, astrogli e microglia. D'altra parte, gli aggregati di cellule P19 esposti a DMSO si differenziano in derivati endodermici e mesodermici, tra cui il muscolo cardiaco e scheletrico. Le cellule P19 possono essere trasfezionate con DNA che codifica geni ricombinanti e possono essere isolate linee stabili che esprimono questi geni. Questa malleabilità e versatilità rendono le cellule P19 una risorsa eccellente per esplorare i meccanismi molecolari che regolano le decisioni di sviluppo delle cellule pluripotenti in fase di differenziamento.

Organism

Mouse

Tissue

Testicolo

Disease

Teratocarcinoma

Synonyms

P-19

Cellule P19 | 400416

Caratteristiche

Breed/Subspecies	C3H/He
Gender	Uomo
Morphology	Simile a un fibroblasto
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	P19 (numero di catalogo Cytion 400416)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_2153
Depositor	Burney

Dati biomolecolari

Karyotype	N = 40, xY
------------------	------------

Manipolazione

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820400a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Cellule P19 | 400416

Subculturing Rimuovere il terreno e sciacquare le cellule aderenti con PBS senza calcio e magnesio (3-5 ml di PBS per T25, 5-10ml per le fiasche di coltura T75). Aggiungere TrypleExpress (1-2ml per T25, 2,5ml per T75), coprendo completamente il foglio cellulare. Incubare a 37 gradi Celsius per 10 minuti. Risospendere accuratamente le cellule, l'aggiunta di terreno è facoltativa ma non necessaria, e dispensarle in nuove fiasche contenenti terreno fresco. Non lasciare che le cellule rimangano confluenti. Eseguire la subcultura almeno ogni 48 ore.

Split ratio Si raccomanda un rapporto di 1:10

Seeding density Subcultura almeno ogni 48 ore

Fluid renewal Ogni 2 giorni

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule P19 | 400416

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule P19 | 400416

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,x