

P19 ląstelės | 400416**Bendra informacija****Description**

P19 ląstelių linija, pluripotentinės embrioninės karcinomos tipas, iš pradžių buvo gauta iš C3H/He padermės pelės teratokarcinomos. Ši į epitelį panaši ląstelių linija pasižymi dideliu klonavimo gebėjimu, kai auginama terpėje su 0,1 mM β -merkaptopetanolio. Pažymėtina P19 ląstelių savybė - jų gebėjimas diferencijuotis į neuronines ir glielines ląsteles veikiant retinoine rūgštimi. Tuo pat metu, veikiamos dimetilsulfoksido (DMSO), jos gali virsti širdies ir skeleto raumenimis. Veikiant ir retinoine rūgštimi, ir DMSO, jie daugiausia pasižymi retinoinės rūgšties sukeltos diferenciacijos savybėmis.

P19 ląstelių linija kilusi iš pelės (*Mus musculus*) ir priklauso plačiai Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata ir Tetrapod klasifikacijai. Šios ląstelės įkūnija epitelinio audinio tipo, gauto iš embriono, morfologiją ir yra siejamos su liga teratokarcinoma. Jos daugiausia naudojamos 3D ląstelių kultūrų programose, priskiriamose gyvūnų ląstelių produktų kategorijai.

Nors vėžinės ląstelės kelia didelę grėsmę sveikatai dėl savo greito ir agresyvaus augimo, jos taip pat yra neįkainojamas šaltinis mokslininkams, tiriantiems vėžinių ląstelių vystymąsi ir ieškantiems tikslingesnių gydymo būdų. 1982 m. P19 ląstelių liniją sukūrė McBurney ir Rogersas, kai 7,5 dienos pelės embrionas buvo persodintas į sėklidę, siekiant sukelti naviko augimą. Jie sėkmingai iš pirminio naviko išskyrė ląstelių kultūras, kuriose buvo nediferencijuotų kamieninių ląstelių, pavadintų embrioninės karcinomos P19 ląstelėmis. Šios ląstelės sparčiai augo nenaudojant maitinamųjų ląstelių ir buvo lengvai palaikomos. Vėlesnė injekcija į kitos pelių padermės blastocistas patvirtino P19 ląstelių daugialypiškumą, nes pelės recipientės audiniai augo visuose trijuose gemaliniuose sluoksniuose.

Iš originalių P19 ląstelių buvo išvestos kelios potipių ląstelių linijos, įskaitant P19S18, P19D3, P19RAC65 ir P19C16. Kiekvienas iš šių potipių pasižymi unikaliomis diferenciacijos galimybėmis į neuronines arba raumenines ląsteles, kai yra veikiamas atitinkamai retinoine rūgštimi arba DMSO. Naujesniuose tyrimuose sukurtos ląstelių linijos, gautos iš diferencijuotų P19 ląstelių, kurios dėl P19 ląstelių pluripotentiškumo gali transformuotis į ektodermą, mezodermą ir endodermą primenančias ląsteles.

P19 ląstelės pasižymi ilgalaikiu augimu serumu papildytoje terpėje. Jų diferenciaciją galima veiksmingai kontroliuoti naudojant netoksiškus vaistus, pavyzdžiui, retinoinę rūgštį, ir taip sukurti neuronus, astrogliją ir mikrogliją. Kita vertus, DMSO veikiamų P19 ląstelių sankaupos diferencijuojasi į endodermos ir mezodermos darinius, įskaitant širdies ir skeleto raumenis. P19 ląstelės taip pat gali būti transfekcionuojamos rekombinantinius genus koduojančia DNR, todėl galima patogiai išskirti stabilias šiuos genus išreiškiančias linijas. Dėl šio plastiškumo ir universalumo P19 ląstelės yra puikus šaltinis tiriant molekulinis mechanizmus, kurie lemia diferencijuojančių pluripotentių ląstelių vystymosi sprendimus.

Organism

Pelė

Tissue

Sėklidės

Disease

Teratokarcinoma

Synonyms

P-19

Charakteristikos

P19 ląstelės | 400416**Breed/Subspecies** C3H/He**Gender** Vyras**Morphology** Į fibroblastus panašus**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** P19 (Cytion katalogo numeris 400416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2153**Biomolekuliniai duomenys****Karyotype** N = 40, xY**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite terpę ir nuplaukite prilipusias ląsteles, naudodami PBS be kalcio ir magnio (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 ląstelių kultūrų kolbose). Įpilkite "TrypleExpress" (1-2 ml į T25, 2,5 ml į T75 ląstelių kultūrų kolbą), ląstelės turi būti visiškai padengtos. 10 minučių inkubuokite 37 laipsnių Celsijaus temperatūroje. Atsargiai resuspenduokite ląsteles, terpės pridėti neprivaloma, bet nebūtina, ir išpilstykite į naujas kolbas su šviežia terpe. Neleiskite ląstelėms likti susiliejudusioms. Subkultūruokite ne rečiau kaip kas 48 valandas.**Split ratio** Rekomenduojamas santykis 1:10

P19 ląstelės | 400416

Seeding density Subkultūros bent kas 48 valandas

Fluid renewal Kas 2 dienas

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolio.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere 37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating Nėra

P19 ląstelės | 400416

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

Amelogenin: x,x