Product sheet

PC-12 ląstelės | 500311

Bendra informacija

Description	PC-12 ląstelės yra ląstelių linija, gauta iš žiurkių antinksčių smegenų feochromocitomos. Šios ląstelės yra embrioninės kilmės, auga adherentiškai ir primena neuroblastinių ir eozinofilinių ląstelių mišinį. PC-12 ląstelės yra katecholaminės ląstelės, kurios sintetina, kaupia ir išskiria noradrenaliną ir dopaminą. Jų skersmuo yra maždaug 10-12 mikronų, tai mažos, netaisyklingos formos ląstelės. PC12 ląstelių linija yra klasikinis neuroninių ląstelių modelis dėl savo gebėjimo įgyti simpatinių neuronų bruožų veikiant nervų augimo faktoriumi (NGF). Dopamino reguliavimo tyrimai parodė, kad PC12 ląstelės sintetina, išskiria ir pakartotinai pasisavina dopaminą, jos buvo išsamiai apibūdintos dėl neurosekrecijos ir joninių kanalų bei neuromediatorių receptorių buvimo. Be to, diferenciacijos metu keičiasi santykinė įvairių Ca kanalų potipių dalis. PC12 ląstelių linija yra pripažintas neuroninių ląstelių modelis, kuris ypač naudingas tiriant ląstelių reakcijas į nervų augimo veiksnius (NGF) ir tai, kaip jos lemia diferenciacijai būdingų baltymų raišką bei diferenciaciją. Kultivuojamos NGF, PC12 ląstelės morfologiškai ir funkciškai diferencijuojasi į simpatinių ganglijų neuronus. Diferenciacija vyksta dėl NGF grįžtamai indukuojamo neuronų fenotipo. Nustatyta, kad kolageno danga yra palanki neuronų savybėms pasiekti, t. y. neuritų ilgiui ir tankiui, apdorojant NGF. PC12 ląstelės yra navikinės ir buvo gautos iš New England Deaconess Hospital padermės žiurkių patinų. PC-12 ląstelių linija turi 40 chromosomų, 38 autosomas ir xY. PC12 ląstelėse ekspresuojamas nervų augimo faktorius (NGF), o NGF poveikis yra vienas esminių ląstelių diferenciacijos reguliatorių. Apibendrinant galima teigti, kad PC12 ląstelės yra universali ir plačiai neurobiologijoje naudojama modelinė sistema dėl jų gebėjimo įgyti simpatinių neuronų bruožų veikiant nervų augimo faktoriui (NGF). Šioms ląstelėms plačiai apibūdinta neurosekrecija, jonų kanalai ir neuromediatorių receptoriai. Dėl jų ypatingo universalumo farmakologiniams tyrimams ir naudojimo kaip nusistovėjusio modelio neuroninių ląstelių proliferacijai ir diferenciacijai tirti jos yra vertinga priemonė neurobiologijos tyrimuose.
Organism	Žiurkės
Tissue	Antinksčiai
Disease	Feochromocitoma
Metastatic site	Netaikoma (antinksčių medulos feochromocitoma; pirminė naviko lokalizacija – antinksčiai)
Applications	Neurobiologijos tyrimai; NGF sukeliama neuronų diferenciacija; dopamino ir katecholaminų fiziologija; neurosekrecija; jonų kanalai (kalcio, natrio); neurotransmiterių receptorių farmakologija; neuroprotekcijos tyrimai; Parkinsono ligos modeliai
Synonyms	PC 12, PC12

Charakteristikos

Age	Nenustatyta

PC-12 ląstelės | 500311

Gender	Vyras
Ethnicity	Japonų
Morphology	Daugiakampis
Cell type	Feochromocitomos ląstelės (neuroendokrininės/chromafininės)
Growth properties	Prisitvirtinantis/susidarantis suspensiją (auga ant kolagenu padengtų paviršių kaip prisitvirtinantis; taip pat sudaro suspensijos sankaupas)

Reguliavimo duomenys

Citation	PC-12 (Cytion katalogo numeris 500311)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_S979
GMO Status	Be genetinių modifikacijų; natūralios rūšies žiurkių feochromocitomos ląstelių linija

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Nervų augimo veiksnys (NGF)
Tumorigenic	Taip, Naujosios Anglijos diakonijos ligoninės žiurkių padermė
Products	Katecholaminai, dopaminas
Karyotype	40 chromosomų, 38 autosomos ir xY

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS

PC-12 ląstelės | 500311

Dissociation Reagent	„TrypLE Express“ (prisitvirtinantis prie kolageno); pipetavimo tirpalas, skirtas suspensinės kultūros atgaivinimui
Subculturing	Suspensijos ląstelės: Pašalinkite ląsteles iš substrato pipete su šviežia terpe. Norėdami gauti pavienes ląsteles, kelis kartus perkoškite suspensiją per 22 kalibro adatą ir išpilstykite į naujas kolbas. Auginimas ant kolageno: Kad pašalintumėte prilipusias ląsteles, naudokite šį standartinį protokolą. Pašalinkite terpę ir nuplaukite prilipusias ląsteles naudodami PBS be kalcio ir magnio (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 ląstelių kultūrų kolboms). Įpilkite "TrypleExpress" (1-2 ml į T25, 2,5 ml į T75 ląstelių kultūrų kolbą), ląstelių lapas turi būti visiškai padengtas. 10 minučių inkubuokite 37 laipsnių Celsijaus temperatūroje. Atsargiai resuspenduokite ląsteles, terpės pridėti neprivaloma, bet nebūtina, ir išpilstykite į naujas kolbas su šviežia terpe.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 48 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

PC-12 ląstelės | 500311

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 % etanoliu.
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 x 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 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kolagenas

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.

PC-12 ląstelės | 500311

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	**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