

## P19 šūnas | 400416

## Vispārīga informācija

## Description

P19 šūnu līnija, pluripotents embrionālās karcinomas veids, sākotnēji tika iegūta no C3H/He celma peļu teratokarcinomas. Šai epitēlijveidīgajai šūnu līnijai piemīt spēja klonēties ar augstu kompetenci, ja to audzē barotnē, kurā iepilda 0,1 mM  $\beta$ -merkaptopetanolu. Ievērojama P19 šūnu iezīme ir to spēja diferencēties neironu un glijas šūnās, ja tās tiek pakļautas retinoīnskābes iedarbībai. Vienlaikus, iedarbojoties ar dimetilsulfoksīdu (DMSO), tām ir potenciāls pārveidoties par sirds un skeleta muskuļiem. Ja tās pakļauj gan retinoīnskābes, gan DMSO iedarbībai, tām pārsvarā ir retinoīnskābes izraisītas diferenciācijas pazīmes.

P19 šūnu līnijas izcelsme ir pele (*Mus musculus*), un tā pieder plašajai Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata un Tetrapod klasifikācijai. Šīm šūnām piemīt epitēlija tipa audu morfoloģija, kas iegūta no embrija, un tās ir saistītas ar teratokarcinomu. Tās galvenokārt izmanto 3D šūnu kultūru lietojumiem dzīvnieku šūnu produktu kategorijā.

Lai gan vēža šūnas rada nopietnu apdraudējumu veselībai to straujās un agresīvās augšanas dēļ, tās ir arī nenovērtējams resurss pētniekiem, kas pēta vēža šūnu attīstību un meklē mērķtiecīgāku ārstēšanu. McBurney un Rogers 1982. gadā radīja šūnu līniju P19, kad 7,5 dienu peles embriju pārstādīja sēklinieku dziedzerī, lai izraisītu audzēja augšanu. Viņi veiksmīgi izolēja šūnu kultūras no primārā audzēja, kas saturēja nediferencētas cilmes šūnas, ko nosauca par embrionālās karcinomas P19 šūnām. Šīm šūnām bija raksturīga strauja augšana bez barotājšūnām, un tās bija viegli uzturēt. Turpmāka injekcija cita peļu celma blastocistās apstiprināja P19 šūnu multipotenci, jo recipienta pelē izauga audi no visiem trim dzimumslāņiem.

No sākotnējām P19 šūnām ir iegūtas vairākas apakštipa šūnu līnijas, tostarp P19S18, P19D3, P19RAC65 un P19C16. Katram no šiem apakštipiem piemīt unikālas diferenciācijas spējas par neironu šūnām vai muskuļu šūnām, ja tās attiecīgi apstrādā ar retinoīnskābi vai DMSO. Jaunākos pētījumos ir radītas šūnu līnijas, kas iegūtas no diferencētām P19 šūnām, kuras, pateicoties P19 šūnu pluripotencei, var pārveidoties par ektodermai, mezodermai un endodermai līdzīgām šūnām.

P19 šūnas ir pazīstamas ar to, ka tās ilgstoši aug barotnē ar seruma piedevu. To diferenciāciju var efektīvi kontrolēt, izmantojot netoksiskas zāles, piemēram, retinoīnskābi, kā rezultātā attīstās neironi, astroglijas un mikroglijas. No otras puses, P19 šūnu agregāti, kas pakļauti DMSO iedarbībai, diferencējas par endodermas un mezodermas atvasinājumiem, tostarp sirds un skeleta muskuļiem. P19 šūnas var arī transfekēt ar DNS, kas kodē rekombinantus gēnus, un var ērti izolēt stabilas līnijas, kas ekspresē šos gēnus. Šī pielāgojamība un daudzpusība padara P19 šūnas par lielisku resursu, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas regulē pluripotento šūnu diferenciācijas attīstības lēmumus.

**Organism** Pele

**Tissue** Testis

**Disease** Teratokarcinoma

**Synonyms** P-19

## Raksturojums

## P19 šūnas | 400416

**Breed/Subspecies** C3H/He**Gender** Vīrieši**Morphology** Fibroblastiem līdzīgs**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** P19 (Cytion kataloga numurs 400416)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_2153

## Biomolekulārie dati

**Karyotype** N = 40, xY

## Darbs ar

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemiet barotni un izskalojiet pielipušās šūnas, izmantojot PBS bez kalcija un magnija (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 šūnu kultūru kolbām). Pievienojiet TrypleExpress (1-2 ml uz T25, 2,5 ml uz T75 šūnu kultūru kolbu), šūnu sloksnei jābūt pilnībā pārklātai. Inkubēt 10 minūtes 37 °C temperatūrā. Uzmanīgi resuspendējiet šūnas, barotnes pievienošana nav obligāta, bet nav nepieciešama, un izlejiet jaunās kolbās, kurās ir svaiga barotne. Neļaujiet šūnām palikt saplūdušām. Veikt subkultūru vismaz ik pēc 48 stundām.**Split ratio** Ieteicamais attiecība ir 1:10

**P19 šūnas | 400416**

**Seeding density** Subkultūras vismaz reizi 48 stundās

**Fluid renewal** Ik pēc 2 dienām

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating** Neviens

**P19 šūnas | 400416**

**Freezing Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Shipping Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

**STR profils**

**Amelogenin:** x,x