

PC-12 šūnas | 500311

Vispārīga informācija

Description

PC-12 šūnas ir šūnu līnija, kas iegūta no žurkas virsnieru smadzeņu smadzeņu feohromocitomas. Šīm šūnām ir embrionāla izcelsme, tās aug adherenti un atgādina neuroblastisko un eozinofilo šūnu maisījumu. PC-12 šūnas ir kateholamīnu šūnas, kas sintezē, uzglabā un izdala norepinefrīnu un dopamīnu. To diametrs ir aptuveni 10-12 mikroni, un tās ir mazas, neregulāras formas šūnas. PC12 šūnu līnija ir klasisks neironu šūnu modelis, jo tā, iedarbojoties ar nervu augšanas faktoru (NGF), spēj iegūt simpātisko neironu īpašības.

Pētījumi par dopamīna regulāciju ir parādījuši, ka PC12 šūnas sintezē, atbrīvo un atpakaļsavāc dopamīnu un ir plaši raksturotas attiecībā uz neirosekrēciju un jonu kanālu un neurotransmiteru receptoru klātbūtni. Turklāt dažādu Ca kanālu apakštipu relatīvais īpatsvars diferenciācijas laikā mainās. PC12 šūnu līnija ir izveidots neironu šūnu modelis, kas ir īpaši noderīgs, pētot šūnu reakcijas uz nervu augšanas faktoriem (NGF) un to, kā tās izraisa diferenciācijai specifisku proteīnu ekspresiju un diferenciāciju. Kultivējot ar NGF, PC12 šūnas morfoloģiski un funkcionāli diferencējas par simpātisko gangliju neironiem. Diferenciācija notiek, NGF atgriezeniski inducējot neironu fenotipu. Pierādīts, ka kolagēna pārklājums labvēlīgi ietekmē neironu īpašību sasniegšanu neiritu garuma un blīvuma ziņā, tos apstrādājot ar NGF.

PC12 šūnas ir tumorigēnas, un tās iegūtas no New England Deaconess Hospital celma žurku tēviņiem. PC-12 šūnu līnijai ir 40 hromosomas, 38 autosomas un xY. PC12 šūnās tiek ekspresēts nervu augšanas faktors (NGF), un NGF iedarbība ir viens no būtiskākajiem šūnu diferenciācijas regulatoriem.

Nobeigumā jāsecina, ka PC12 šūnas ir daudzpusīga un plaši izmantota modeļsistēma neirobioloģijā, jo tās, iedarbojoties ar nervu augšanas faktoru (NGF), spēj iegūt simpātisko neironu īpašības. Šīm šūnām ir plaši raksturota neirosekrēcija, jonu kanāli un neurotransmiteru receptori. To ārkārtīgā daudzpusība farmakoloģisko testu veikšanai un izmantošana kā atzīts modelis neironu šūnu proliferācijas un diferenciācijas izpētei padara tās par vērtīgu instrumentu neirobioloģijas pētījumos.

Organism Žurkas

Tissue Virsnieru dziedzeris

Disease Feohromocitoma

Synonyms PC 12, PC12

Raksturojums

Age Nav norādīts

Gender Vīrieši

Ethnicity Japāņu

Morphology Daudzstūris

PC-12 šūnas | 500311

Growth properties Nelieli klasteri suspensijā, slikti salīpuši, plankumi uz kolagēna.

Normatīvie dati

Citation PC-12 (Cytion kataloga numurs 500311)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_S979

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Nervu augšanas faktors (NGF)

Tumorigenic Jā, Jaunanglijas Diakonijas slimnīcas celma žurkas

Products Kateholamīni, dopamīns

Karyotype 40 hromosomas, 38 autosomas un xY

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Subculturing Suspensijas šūnas: Atdaliet šūnas no substrāta, pipetējot ar svaigu barotni. Lai iegūtu atsevišķas šūnas, suspensiju vairākas reizes izlaiž caur 22 collu adatu un iepilda jaunās kolbās. Audzēšana uz kolagēna: Lai atdalītu pielīpušās šūnas, izmantot šādu standarta protokolu. Noņemt barotni un izskalot pielīpušās 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.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

PC-12 šūnas | 500311

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 48 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju 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% CO₂, mitrināta atmosfēra.**Flask Coating** Kolagēns

PC-12 šūnas | 500311

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.