

P19 Cellen | 400416

Algemene informatie

Description

De P19 cellijn, een type pluripotent embryonaal carcinoom, werd oorspronkelijk verkregen uit een teratocarcinoom in een C3H/He-stam muis. Deze epitheelachtige cellijn vertoont het vermogen om met hoge bekwaamheid te klonen wanneer deze wordt gekweekt in een medium met 0,1mM β -mercaptoethanol. Een opvallend kenmerk van P19 cellen is hun aanpassingsvermogen om te differentiëren in neuronale en gliale cellen wanneer ze worden blootgesteld aan retinoïnezuur. Tegelijkertijd kunnen ze transformeren in hart- en skeletspieren bij blootstelling aan dimethylsulfoxide (DMSO). Wanneer ze worden blootgesteld aan zowel retinoïnezuur als DMSO, vertonen ze voornamelijk kenmerken van door retinoïnezuur geïnduceerde differentiatie.

De P19 cellijn is afkomstig van de muis (*Mus musculus*) en behoort tot de brede classificatie van Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata en Tetrapoda. De cellen belichamen de morfologie van een epitheliaal weefseltype afkomstig van het embryo en worden in verband gebracht met de zieke teratocarcinoom. Ze worden voornamelijk gebruikt in 3D-celkweektoepassingen binnen de productcategorie dierlijke cellen.

Kankercellen vormen een belangrijke bedreiging voor de gezondheid vanwege hun snelle en agressieve groei, maar zijn ook van onschatbare waarde voor onderzoekers die de ontwikkeling van kankercellen bestuderen en op zoek zijn naar meer gerichte behandelingen. In 1982 werd de P19 cellijn gecreëerd toen een 7,5-daags muizenembryo werd getransplanteerd in een testis om tumorgroei te induceren door McBurney en Rogers. Ze isoleerden met succes celculturen uit de primaire tumor die ongedifferentieerde stamcellen bevatten, embryonaal carcinoom P19-cellen genoemd. Deze cellen vertoonden een snelle groei zonder dat er voedingscellen nodig waren en waren gemakkelijk te onderhouden. Daaropvolgende injectie in blastocysten van een andere muizenstam bevestigde de multipotentie van P19 cellen, aangezien weefsels van alle drie de kiemlagen groeiden in de ontvangende muis.

Van de oorspronkelijke P19 cellen zijn verschillende subtype cellijnen afgeleid, waaronder P19S18, P19D3, P19RAC65 en P19C16. Elk van deze subtypes heeft een uniek differentiatievermogen in neuronale cellen of spiercellen wanneer ze behandeld worden met respectievelijk retinoïnezuur of DMSO. Recentere studies hebben cellijnen gegenereerd die afgeleid zijn van gedifferentieerde P19 cellen, die vanwege de pluripotentie van P19 cellen kunnen transformeren in ectoderm, mesoderm en endoderm-achtige cellen.

P19 cellen staan bekend om hun aanhoudende groei in media met serum. Hun differentiatie kan effectief worden gecontroleerd met niet-giftige medicijnen zoals retinoïnezuur, wat leidt tot de ontwikkeling van neuronen, astroglia en microglia. Aan de andere kant differentiëren aggregaten van P19 cellen blootgesteld aan DMSO in endodermale en mesodermale derivaten, waaronder hart- en skeletspieren. P19 cellen zijn ook geschikt voor transfectie met DNA dat codeert voor recombinante genen en stabiele lijnen die deze genen tot expressie brengen kunnen gemakkelijk geïsoleerd worden. Deze vormbaarheid en veelzijdigheid maken P19 cellen een uitstekende bron voor het onderzoeken van de moleculaire mechanismen die de ontwikkelingsbeslissingen van differentiërende pluripotente cellen bepalen.

Organism Muis

Tissue Testikel

Disease Teratocarcinoom

Synonyms P-19

P19 Cellen | 400416

Kenmerken

Breed/Subspecies	C3H/He
Gender	Mannelijk
Morphology	Fibroblast-achtige
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	P19 (Cytion catalogusnummer 400416)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_2153
Depositor	Burney

Biomoleculaire gegevens

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

Omgaan met

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

P19 Cellen | 400416

Subculturing Verwijder medium en spoel de adherente cellen met PBS zonder calcium en magnesium (3-5 ml PBS voor T25, 5-10ml voor T75 celkweekflessen). Voeg TrypleExpress toe (1-2ml per T25, 2,5ml per T75 celkweekfles), het celblad moet volledig bedekt zijn. Incubeer gedurende 10 minuten bij 37 graden Celsius. Resuspendeer de cellen voorzichtig, de toevoeging van medium is optioneel maar niet noodzakelijk, en breng ze over in nieuwe kolven met vers medium. Laat de cellen niet confluent blijven. Subcultureer ten minste elke 48 uur.

Split ratio Een verhouding van 1:10 wordt aanbevolen

Seeding density Subcultuur ten minste elke 48 uur

Fluid renewal Om de 2 dagen

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

P19 Cellen | 400416

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

P19 Cellen | 400416

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x