

**P19-celler | 400416****Generell informasjon****Description**

P19-cellelinjen, en type pluripotent embryonalt karsinom, ble opprinnelig utvunnet fra et teratokarsinom i en C3H/He-stamme av mus. Denne epitel-lignende cellelinjen viser evne til å klon seg med høy effektivitet når den dyrkes i et medium tilsatt 0,1 mM  $\beta$ -merkaptoetanol. Et bemerkelsesverdige trekk ved P19-cellene er deres evne til å differensiere til nevron- og gliaceller når de utsettes for retinsyre. Samtidig har de potensial til å forvandle seg til hjerte- og skjelettmuskulatur når de utsettes for dimetylsulfoksid (DMSO). Når de utsettes for både retinsyre og DMSO, viser de først og fremst kjennetegn på retinsyreindusert differensiering.

P19-cellelinjen stammer fra mus (*Mus musculus*) og tilhører den brede klassifiseringen av Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata og Tetrapod. Cellene har morfologien til en epitelial vevstype som stammer fra embryoet, og er forbundet med sykdommen teratokarsinom. De brukes primært i 3D-cellekulturapplikasjoner innenfor produktkategorien dyreceller.

Samtidig som kreftceller utgjør en betydelig helsetrussel på grunn av sin raske og aggressive vekst, er de også en uvurderlig ressurs for forskere som studerer kreftcellenes utvikling og søker mer målrettede behandlinger. I 1982 ble P19-cellelinjen skapt ved at McBurney og Rogers transplanterte et 7,5 dager gammelt museembryo inn i en testis for å indusere tumorvekst. De lyktes med å isolere cellekulturer fra den primære svulsten som inneholdt udifferensierte stamceller, kalt embryonale karsinom P19-celler. Disse cellene viste rask vekst uten behov for feeder celler og var enkle å vedlikeholde. Etterfølgende injeksjon i blastocyster fra en annen musestamme bekreftet P19-cellenes multipotens, ettersom vev fra alle tre kimlagene vokste i mottakermusen.

Fleire subtypecellelinjer har blitt avledet fra de opprinnelige P19-cellene, inkludert P19S18, P19D3, P19RAC65 og P19C16. Hver av disse subtypeene har unike differensieringsegenskaper til nevronale celler eller muskelceller når de behandles med henholdsvis retinsyre eller DMSO. Nyere studier har generert cellelinjer avledet fra differensierte P19-celler, som på grunn av P19-cellenes pluripotens kan transformeres til ektoderm-, mesoderm- og endoderm-lignende celler.

P19-celler er kjent for sin vedvarende vekst i serumtilførte medier. Differensieringen kan kontrolleres effektivt ved hjelp av ikke-toksiske stoffer som retinsyre, noe som fører til utvikling av nevroner, astroglia og mikrogliia. På den annen side differensierer aggregater av P19-celler som eksponeres for DMSO, til endodermale og mesodermale derivater, inkludert hjerte- og skjelettmuskulatur. P19-celler kan også transfekteres med DNA som koder for rekombinante gener, og stabile linjer som uttrykker disse genene, kan enkelt isoleres. Denne formbarheten og allsidigheten gjør P19-celler til en utmerket ressurs for å utforske de molekylære mekanismene som styrer utviklingsbeslutningene til differensierende pluripotente celler.

<b>Organism</b>	Mus
<b>Tissue</b>	Testis
<b>Disease</b>	Teratokarsinom
<b>Synonyms</b>	P-19

**Kjennetegn**

**P19-celler | 400416****Breed/Subspecies** C3H/He**Gender** Mann**Morphology** Fibroblastlignende**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** P19 (Cytion-katalognummer 400416)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_2153**Depositor** Burney**Biomolekylære data****Karyotype** N = 40, xY**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern mediet og skyll de adherente cellene med PBS uten kalsium og magnesium (3-5 ml PBS for T25, 5-10 ml for T75-cellekulturflasker). Tilsett TrypleExpress (1-2 ml per T25-cellekulturkolbe, 2,5 ml per T75-cellekulturkolbe), cellearket må være helt dekket. Inkuber ved 37 grader Celsius i 10 minutter. Resuspender cellene forsiktig, tilsetning av medium er valgfritt, men ikke nødvendig, og fordel dem i nye kolber som inneholder friskt medium. Ikke la cellene forbli konfluente. Subkultur minst hver 48. time.

**P19-celler | 400416****Split ratio** Et forhold på 1:10 anbefales**Seeding density** Subkultur minst hver 48. time**Fluid renewal** Annenhver dag**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation Atmosphere**  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.**Flask Coating** Ingen

## P19-celler | 400416

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**Amelogenin:** x,x