

**Komórki P19 | 400416****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa P19, rodzaj pluripotencjalnego raka embrionalnego, została początkowo uzyskana z potworniaka u myszy szczepu C3H/He. Ta podobna do nabłonka linia komórkowa wykazuje zdolność do klonowania z wysoką wydajnością, gdy jest hodowana w pożywce zawierającej 0,1 mM  $\beta$ -merkaptoetanolu. Godną uwagi cechą komórek P19 jest ich zdolność do różnicowania się w komórki neuronalne i glejowe pod wpływem kwasu retinowego. Jednocześnie mają one potencjał do przekształcania się w mięśnie sercowe i szkieletowe pod wpływem dimetylosulfotlenku (DMSO). Poddane działaniu zarówno kwasu retinowego, jak i DMSO, wykazują głównie cechy różnicowania indukowanego kwasem retinowym.

Linia komórkowa P19 pochodzi od myszy (*Mus musculus*) i należy do szerokiej klasyfikacji Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata i Tetrapoda. Komórki te mają morfologię typu tkanki nabłonkowej pochodzącej z zarodka i są związane z chorobą teratocarcinoma. Są one wykorzystywane głównie w hodowlach komórkowych 3D w ramach kategorii produktów komórek zwierzęcych.

Podczas gdy komórki nowotworowe stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia ze względu na ich szybki i agresywny wzrost, stanowią one również nieocenione źródło informacji dla naukowców badających rozwój komórek nowotworowych i poszukujących bardziej ukierunkowanych metod leczenia. W 1982 roku McBurney i Rogers stworzyli linię komórkową P19, przeszczepiając 7,5-dniowy zarodek myszy do jądra w celu wywołania wzrostu guza. Udało im się wyizolować hodowle komórkowe z guza pierwotnego zawierające niezróżnicowane komórki macierzyste, nazwane komórkami raka zarodkowego P19. Komórki te wykazywały szybki wzrost bez potrzeby stosowania komórek zasilających i były łatwe w utrzymaniu. Późniejsze wstrzyknięcie do blastocyst innego szczepu myszy potwierdziło multipotencjalność komórek P19, ponieważ tkanki ze wszystkich trzech warstw zarodkowych rosły u myszy biorcy.

Z oryginalnych komórek P19 wyprowadzono kilka podtypów linii komórkowych, w tym P19S18, P19D3, P19RAC65 i P19C16. Każdy z tych podtypów posiada unikalne zdolności różnicowania się w komórki neuronalne lub mięśniowe, gdy jest traktowany odpowiednio kwasem retinowym lub DMSO. Nowsze badania wygenerowały linie komórkowe pochodzące ze zróżnicowanych komórek P19, które dzięki pluripotencji komórek P19 mogą przekształcać się w komórki ektodermalne, mezodermalne i endodermalne.

Komórki P19 znane są z trwałego wzrostu w pożywce z dodatkiem surowicy. Ich różnicowanie można skutecznie kontrolować za pomocą nietoksycznych leków, takich jak kwas retinowy, co prowadzi do rozwoju neuronów, astrogleju i mikrogleju. Z drugiej strony, agregaty komórek P19 wystawione na działanie DMSO różnicują się w pochodne endodermalne i mezodermalne, w tym mięśnie sercowe i szkieletowe. Komórki P19 są również podatne na transfekcję DNA kodującym rekombinowane geny, a stabilne linie wyrażające te geny można wygodnie izolować. Ta plastyczność i wszechstronność sprawiają, że komórki P19 są doskonałym źródłem do badania mechanizmów molekularnych, które regulują decyzje rozwojowe różnicujących się komórek pluripotencjalnych.

**Organism** Mysz**Tissue** Jądro**Disease** Teratocarcinoma**Synonyms** P-19

## Komórki P19 | 400416

## Charakterystyka

<b>Breed/Subspecies</b>	C3H/He
<b>Gender</b>	Męczyzna
<b>Morphology</b>	Podobny do fibroblastów
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Dane regulacyjne

<b>Citation</b>	P19 (numer katalogowy Cytion 400416)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_2153
<b>Depositor</b>	Burney

## Dane biomolekularne

<b>Karyotype</b>	N = 40, xY
------------------	------------

## Obsługa

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

## Komórki P19 | 400416

**Subculturing** Usunąć pożywkę i przepłukać przylegające komórki używając PBS bez wapnia i magnezu (3-5 ml PBS na kolbę T25, 5-10 ml na kolbę T75). Dodaj TrypleExpress (1-2 ml na kolbę T25, 2,5 ml na kolbę T75), arkusz komórek musi być całkowicie pokryty. Inkubować w temperaturze 37 stopni Celsjusza przez 10 minut. Ostrożnie ponownie zawiesić komórki, dodanie pożywki jest opcjonalne, ale nie jest konieczne, i przenieść je do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę. Nie dopuścić do zlepiania komórek. Subkulturę należy powtarzać co najmniej co 48 godzin.

**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:10

**Seeding density** Podhodowla co najmniej co 48 godzin

**Fluid renewal** Co 2 dni

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki P19 | 400416****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki P19 | 400416

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x