

Células P19 | 400416

Informações gerais

Description

A linha celular P19, um tipo de carcinoma embrionário pluripotente, foi inicialmente obtida a partir de um teratocarcinoma num rato da estirpe C3H/He. Esta linha de células de tipo epitelial apresenta a capacidade de clonar com elevada proficiência quando cultivada num meio infundido com 0,1 mM de β -mercaptoetanol. Uma característica notável das células P19 é a sua adaptabilidade para se diferenciarem em células neuronais e gliais quando expostas ao ácido retinóico. Simultaneamente, têm o potencial de se transformarem em músculo cardíaco e esquelético quando expostas a dimetilsulfóxido (DMSO). Quando submetidas tanto ao ácido retinóico como ao DMSO, apresentam predominantemente características de diferenciação induzida pelo ácido retinóico.

A linha celular P19 é originária do rato (*Mus musculus*) e pertence à classificação geral de Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata e Tetrapod. As células apresentam a morfologia de um tipo de tecido epitelial derivado do embrião e estão associadas à doença do teratocarcinoma. São principalmente utilizadas em aplicações de cultura de células 3D na categoria de produtos de células animais.

Embora as células cancerígenas representem uma ameaça significativa para a saúde devido ao seu crescimento rápido e agressivo, oferecem também um recurso inestimável para os investigadores que estudam o desenvolvimento das células cancerígenas e procuram tratamentos mais direcionados. Em 1982, a linha celular P19 foi criada quando um embrião de rato de 7,5 dias foi transplantado para um testículo para induzir o crescimento de um tumor por McBurney e Rogers. Isolaram com sucesso culturas de células do tumor primário contendo células estaminais indiferenciadas, denominadas células de carcinoma embrionário P19. Estas células demonstraram um crescimento rápido sem a necessidade de células de alimentação e eram fáceis de manter. A injeção subsequente em blastocistos de outra estirpe de ratinho confirmou a multipotência das células P19, uma vez que os tecidos das três camadas germinativas cresceram no ratinho recetor.

Foram derivadas várias linhas celulares de subtipos a partir das células P19 originais, incluindo P19S18, P19D3, P19RAC65 e P19C16. Cada um destes subtipos possui capacidades únicas de diferenciação em células neuronais ou células musculares quando tratadas com ácido retinóico ou DMSO, respetivamente. Estudos mais recentes geraram linhas celulares derivadas de células P19 diferenciadas, que, devido à pluripotência das células P19, podem transformar-se em células do tipo ectoderme, mesoderme e endoderme.

As células P19 são conhecidas pelo seu crescimento sustentado em meios suplementados com soro. A sua diferenciação pode ser eficazmente controlada utilizando drogas não tóxicas como o ácido retinóico, levando ao desenvolvimento de neurónios, astroglia e microglia. Por outro lado, os agregados de células P19 expostos a DMSO diferenciam-se em derivados endodérmicos e mesodérmicos, incluindo músculo cardíaco e esquelético. As células P19 também são passíveis de transfecção com ADN que codifica genes recombinantes, e podem ser convenientemente isoladas linhas estáveis que expressam esses genes. Esta maleabilidade e versatilidade fazem das células P19 um excelente recurso para explorar os mecanismos moleculares que regem as decisões de desenvolvimento das células pluripotentes em diferenciação.

Organism Rato

Tissue Testículo

Disease Teratocarcinoma

Synonyms P-19

Células P19 | 400416**Caraterísticas**

Breed/Subspecies	C3H/He
Gender	Masculino
Morphology	Tipo fibroblastos
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	P19 (número de catálogo Cytion 400416)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_2153

Dados biomoleculares

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

Manuseamento

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820400a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Remover o meio e enxaguar as células aderentes utilizando PBS sem cálcio e magnésio (3-5 ml de PBS para T25, 5-10 ml para frascos de cultura de células T75). Adicionar TrypleExpress (1-2 ml por T25, 2,5 ml por frasco de cultura de células T75), devendo a folha de células ser completamente coberta. Incubar a 37 graus Celsius durante 10 minutos. Ressuspender cuidadosamente as células, a adição de meio é opcional mas não necessária, e distribuir em novos frascos que contenham meio fresco. Não permitir que as células se mantenham confluentes. Subcultura pelo menos de 48 em 48 horas.

Células P19 | 400416

Split ratio Recomenda-se uma proporção de 1:10

Seeding density Subcultura pelo menos a cada 48 horas

Fluid renewal A cada 2 dias

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Células P19 | 400416

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2} atmosfera humidificada.

Flask Coating Nenhum

Freezing Procedure As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil STR **Amelogenin:** x,x