

Celule P19 | 400416

Informații generale

Description

Linia celulară P19, un tip de carcinom embrionar pluripotent, a fost obținută inițial dintr-un teratocarcinom la un șoarece din tulpina C3H/He. Această linie celulară de tip epitelial prezintă capacitatea de a se clona cu o competență ridicată atunci când este cultivată într-un mediu infuzat cu 0,1mM β -mercaptoetanol. O caracteristică notabilă a celulelor P19 este adaptabilitatea lor de a se diferenția în celule neuronale și gliale atunci când sunt expuse la acid retinoic. Simultan, ele au potențialul de a se transforma în mușchi cardiac și scheletic atunci când sunt expuse la dimetil sulfoxid (DMSO). Atunci când sunt supuse atât acidului retinoic, cât și DMSO, ele prezintă predominant caracteristicile diferențierii induse de acidul retinoic.

Linia celulară P19 își are originea în șoarece (*Mus musculus*) și aparține clasificării largi Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata și Tetrapod. Celulele încorporează morfologia unui tip de țesut epitelial derivat din embrion și sunt asociate cu boala teratocarcinom. Ele sunt utilizate în principal în aplicații de cultură celulară 3D în cadrul categoriei de produse de celule animale.

În timp ce celulele canceroase reprezintă o amenințare semnificativă pentru sănătate din cauza creșterii lor rapide și agresive, ele oferă, de asemenea, o resursă neprețuită pentru cercetătorii care studiază dezvoltarea celulelor canceroase și caută tratamente mai bine țintite. În 1982, McBurney și Rogers au creat linia celulară P19 atunci când un embrion de șoarece de 7,5 zile a fost transplantațat într-un testicul pentru a induce creșterea tumorii. Aceștia au izolat cu succes culturi de celule din tumora primară care conțineau celule stem nediferențiate, denumite celule P19 de carcinom embrionar. Aceste celule au demonstrat o creștere rapidă fără a fi nevoie de celule de hrănire și au fost ușor de întreținut. Injectarea ulterioară în blastocite ale unei alte tulpini de șoareci a confirmat multipotența celulelor P19, deoarece țesuturi din toate cele trei straturi germinale au crescut la șoarecele receptor.

Mai multe linii celulare subtip au fost derivate din celulele P19 originale, inclusiv P19S18, P19D3, P19RAC65 și P19C16. Fiecare dintre aceste subtipuri posedă capacități unice de diferențiere în celule neuronale sau musculare atunci când sunt tratate cu acid retinoic sau DMSO, respectiv. Studii mai recente au generat linii celulare derivate din celule P19 diferențiate, care, datorită pluripotenței celulelor P19, se pot transforma în celule de tip ectoderm, mezoderm și endoderm.

Celulele P19 sunt cunoscute pentru creșterea lor susținută în medii suplimentate cu ser. Diferențierea lor poate fi controlată în mod eficient cu ajutorul medicamentelor netoxice, cum ar fi acidul retinoic, conducând la dezvoltarea neuronilor, astrogliilor și microgliilor. Pe de altă parte, agregatele de celule P19 expuse la DMSO se diferențiază în derivați endodermici și mezodermici, inclusiv mușchi cardiac și scheletic. De asemenea, celulele P19 se pretează la transfecția cu ADN care codifică gene recombinante, iar liniile stabile care exprimă aceste gene pot fi izolate convenabil. Această maleabilitate și versatilitate fac din celulele P19 o resursă excelentă pentru explorarea mecanismelor moleculare care guvernează deciziile de dezvoltare ale celulelor pluripotente diferențiate.

Organism Șoarece

Tissue Testicul

Disease Teratocarcinom

Synonyms P-19

Celule P19 | 400416

Caracteristici

Breed/Subspecies	C3H/He
Gender	Masculin
Morphology	Fibroblast-like
Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Citation	P19 (număr de catalog Cytion 400416)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_2153

Date biomoleculare

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

Manipulare

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820400a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Îndepărtați mediul și clătiți celulele aderente folosind PBS fără calciu și magneziu (3-5 ml PBS pentru T25, 5-10 ml pentru flacoane de cultură celulară T75). Adăugați TrypleExpress (1-2 ml pentru T25, 2,5 ml pentru balonul de cultură celulară T75), foaia celulară trebuie să fie acoperită complet. Incubați la 37 grade Celsius timp de 10 minute. Se resuspendă cu grijă celulele, adăugarea de mediu este opțională, dar nu necesară, și se distribuie în flacoane noi care conțin mediu proaspăt. Nu permiteți celulelor să rămână confluențe. Subcultură cel puțin o dată la 48 de ore.

Celule P19 | 400416

Split ratio Se recomandă un raport de 1:10

Seeding density Subcultură cel puțin la fiecare 48 de ore

Fluid renewal La fiecare 2 zile

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating Niciuna

Celule P19 | 400416

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Profilul STR

Amelogenin: x,x