

P19 Bunky | 400416**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia P19, typ pluripotentného embryonálneho karcinómu, bola pôvodne získaná z teratokarcinómu u myši kmeňa C3H/He. Táto epitelu podobná bunková línia vykazuje schopnosť klonovať sa vo vysokej miere, keď sa pestuje v médiu s prídavkom 0,1 mM β -merkaptoetanolu. Pozoruhodnou vlastnosťou buniek P19 je ich schopnosť diferencovať sa na neurónové a gliové bunky, keď sú vystavené pôsobeniu kyseliny retinovej. Zároveň majú potenciál transformovať sa na srdcové a kostrové svaly, keď sú vystavené dimetylsulfoxidu (DMSO). Ak sú vystavené pôsobeniu kyseliny retinovej aj DMSO, vykazujú prevažne znaky diferenciácie vyvolanej kyselinou retinovou.

Bunková línia P19 má pôvod v myši (*Mus musculus*) a patrí do širokej klasifikácie Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata a Tetrapod. Bunky stelesňujú morfológiu epitelového typu tkaniva odvodeného od embrya a spájajú sa s ochorením teratokarcinóm. Využívajú sa predovšetkým v aplikáciách 3D bunkových kultúr v rámci kategórie produktov živočíšnych buniek.

Hoci rakovinové bunky predstavujú významnú zdravotnú hrozbu kvôli svojmu rýchlemu a agresívnemu rastu, ponúkajú aj neoceniteľný zdroj pre výskumníkov skúmajúcich vývoj rakovinových buniek a hľadajúcich cielenejšie spôsoby liečby. V roku 1982 vytvorili McBurney a Rogers bunkovú líniu P19, keď 7,5-dňové myšie embryo transplantovali do semenníka s cieľom vyvolať rast nádoru. Úspešne izolovali bunkové kultúry z primárneho nádoru obsahujúce nediferencované kmeňové bunky, ktoré označili ako bunky embryonálneho karcinómu P19. Tieto bunky vykazovali rýchly rast bez potreby kŕmnych buniek a ľahko sa udržiavali. Následná injekcia do blastocysty iného kmeňa myši potvrdila multipotenciu buniek P19, keďže v myši príjemkyni rástli tkanivá zo všetkých troch zárodočných vrstiev.

Z pôvodných buniek P19 bolo odvodených niekoľko podtypových bunkových línií vrátane P19S18, P19D3, P19RAC65 a P19C16. Každý z týchto podtypov má jedinečnú schopnosť diferenciácie na neurónové bunky alebo svalové bunky, keď sa na ne pôsobí kyselinou retinovou alebo DMSO. Novšie štúdie vytvorili bunkové línie odvodené z diferencovaných buniek P19, ktoré sa vďaka pluripotencii buniek P19 môžu transformovať na bunky podobné ektodermu, mezodermu a endodermu.

Bunky P19 sú známe svojím trvalým rastom v médiách doplnených sérom. Ich diferenciáciu možno účinne kontrolovať pomocou netoxických liečiv, ako je kyselina retinová, čo vedie k vývoju neurónov, astroglie a mikroglie. Na druhej strane agregáty buniek P19 vystavené pôsobeniu DMSO sa diferencujú na endodermálne a mezodermálne deriváty vrátane srdcového a kostrového svalu. Bunky P19 sú tiež vhodné na transfekciu DNA kódujúcou rekombinantné gény a stabilné línie exprimujúce tieto gény sa dajú pohodlne izolovať. Vďaka tejto prispôsobivosti a univerzálnosti sú bunky P19 vynikajúcim zdrojom na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré riadia vývojové rozhodnutia diferencujúcich sa pluripotentných buniek.

Organism

Myš

Tissue

Testis

Disease

Teratokarcinóm

Synonyms

P-19

Charakteristika

P19 Bunky | 400416**Breed/Subspecies** C3H/He**Gender** Muži**Morphology** Fibroblastom podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** P19 (katalógové číslo Cytion 400416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2153**Biomolekulárne údaje****Karyotype** N = 40, xY**Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte médium a opláchnite prichytené bunky pomocou PBS bez vápnika a horčíka (3-5 ml PBS pre banky T25, 5-10 ml pre banky T75). Pridajte TrypleExpress (1 - 2 ml na T25, 2,5 ml na banku s bunkovou kultúrou T75), bunkový list musí byť úplne pokrytý. Inkubujte pri teplote 37 °C počas 10 minút. Opatrne resuspendujte bunky, pridanie média je voliteľné, ale nie je potrebné, a rozmiestnite ich do nových fliaš, ktoré obsahujú čerstvé médium. Nedovoľte, aby bunky zostali konfluentné. Subkultúru vykonávajte najmenej každých 48 hodín.**Split ratio** Odporúča sa pomer 1:10

P19 Bunky | 400416

Seeding density Subkultúra aspoň každých 48 hodín

Fluid renewal Každé 2 dni

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Žiadne

P19 Bunky | 400416

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

STR profile

Amelogenin: x,x