

Bunky PC-12 | 500311**Všeobecné informácie****Description**

Bunky PC-12 sú bunkovou líniou odvodenou z feochromocytómu drene nadobličiek potkanov. Tieto bunky sú embryonálneho pôvodu, rastú adherentne a pripomínajú zmes neuroblastických a eozinofilných buniek. Bunky PC-12 sú katecholamínové bunky, ktoré syntetizujú, skladujú a uvoľňujú noradrenalín a dopamín. Majú priemer približne 10-12 mikrónov a sú to malé, nepravidelne tvarované bunky. Bunková línia PC12 je klasickým modelom neurónových buniek vďaka svojej schopnosti získať vlastnosti sympatických neurónov pri pôsobení nervového rastového faktora (NGF).

Štúdie o regulácii dopamínu ukázali, že bunky PC12 syntetizujú, uvoľňujú a spätne vycytávajú dopamín a boli podrobne charakterizované z hľadiska neurosekrécie a prítomnosti iónových kanálov a neurotransmitterových receptorov. Okrem toho sa počas diferenciácie mení relatívny podiel rôznych podtypov Ca kanálov. Bunková línia PC12 je zavedený model neurónových buniek, ktorý je obzvlášť užitočný pri štúdiu bunkových reakcií na nervové rastové faktory (NGF) a toho, ako tieto vedú k expresii proteínov špecifických pre diferenciáciu a diferenciáciu. Pri kultivácii v NGF sa bunky PC12 morfológicky a funkčne diferencujú na neuróny sympatických ganglií. Diferenciácia je výsledkom reverzibilnej indukcie neuronálneho fenotypu NGF. Ukázalo sa, že kolagénový povlak je priaznivý pre dosiahnutie neurónových charakteristík z hľadiska dĺžky a hustoty neurónov pôsobením NGF.

Bunky PC12 sú nádorové a boli získané zo samcov potkanov kmeňa New England Deaconess Hospital. Bunková línia PC-12 má 40 chromozómov, 38 autozómov a xY. Nervový rastový faktor (NGF) je exprimovaný v bunkách PC12 a pôsobenie NGF je jedným z rozhodujúcich regulátorov diferenciácie buniek.

Záverom možno konštatovať, že bunky PC12 sú univerzálnym a široko používaným modelovým systémom v neurobiológii vďaka ich schopnosti nadobúdať vlastnosti sympatických neurónov pri pôsobení nervového rastového faktora (NGF). Tieto bunky boli podrobne charakterizované z hľadiska neurosekrécie, iónových kanálov a neurotransmitterových receptorov. Ich mimoriadna všestrannosť na farmakologické testovanie a použitie ako zavedený model na štúdium proliferácie a diferenciácie neurónových buniek z nich robí cenný nástroj v neurobiologickom výskume.

Organism Krysy**Tissue** Nadobličky**Disease** Feochromocytóm**Synonyms** PC 12, PC12**Charakteristika****Age** Nešpecifikované**Gender** Muži**Ethnicity** Japonský

Bunky PC-12 | 500311**Morphology** Polygonálne**Growth properties** Malé zhluky v suspenzii, slabo priliehajúce, škrvny na kolagéne.**Regulačné údaje****Citation** PC-12 (katalógové číslo Cytion 500311)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_S979**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Nervový rastový faktor (NGF)**Tumorigenic** Áno, v nemocnici New England Deaconess Hospital kmeň potkanov**Products** Katecholamíny, dopamín**Karyotype** 40 chromozómov, 38 autozómov a xY**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Subculturing** Suspenzné bunky: Odstráňte bunky zo substrátu pipetovaním s čerstvým médiom. Ak chcete získať jednotlivé bunky, niekoľkokrát prejdite suspenziu cez ihlu s priemerom 22 a dávajte do nových baniek. Pestovanie na kolagéne: Na odstránenie priľnutých buniek použite nasledujúci štandardný protokol. Odstráňte médium a opláchnite adherované 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, prídanie média je voliteľné, ale nie je potrebné, a rozmiestnite ich do nových fliaš, ktoré obsahujú čerstvé médium.

Bunky PC-12 | 500311

Seeding density 1 x 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste bunky v množstve 5 x 10⁴ buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilepiť sa najmenej 48 hodín.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), 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 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Bunky PC-12 | 500311

Flask Coating Kolagén

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 mykoplaziem založených na luminiscencii.

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