

P19 Hücreleri | 400416

Genel bilgi

Description

Bir tür pluripotent embriyonal karsinom olan P19 hücre hattı, ilk olarak C3H/He suşu faredeki bir teratokarsinomdan elde edilmiştir. Bu epitel benzeri hücre hattı, 0,1 mM β -merkaptoetanol ile aşılınmış bir ortamda yetiştirildiğinde yüksek yeterlilikte klonlama kabiliyeti sergiler. P19 hücrelerinin dikkate değer bir özelliği, retinoik aside maruz kaldıklarında nöronal ve glial hücelere farklılaşmaya adapte olabilmeleridir. Aynı zamanda, dimetil sülfoksit (DMSO) maruz kaldıklarında kalp ve iskelet kasına dönüşme potansiyeline sahiptirler. Hem retinoik asit hem de DMSO'ya maruz kaldıklarında, ağırlıklı olarak retinoik asitle indüklenen farklılaşma özellikleri gösterirler.

P19 hücre hattının kökeni faredir (*Mus musculus*) ve Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata ve Tetrapod'un geniş sınıflandırmasına aittir. Hücreler, embriyodan türetilen bir epitel doku tipinin morfolojisini barındırır ve teratokarsinom hastalığı ile ilişkilidir. Öncelikle hayvan hücreleri ürün kategorisi içinde 3D hücre kültürü uygulamalarında kullanılırlar.

Kanser hücreleri hızlı ve agresif büyümeleri nedeniyle önemli bir sağlık tehdidi oluştururken, aynı zamanda kanser hücresi gelişimini inceleyen ve daha hedefe yönelik tedaviler arayan araştırmacılar için paha biçilmez bir kaynak sunmaktadır. 1982 yılında, McBurney ve Rogers tarafından tümör büyümesini tetiklemek için 7,5 günlük bir fare embriyosunun testise nakledilmesiyle P19 hücre hattı oluşturuldu. Embriyonal karsinom P19 hücreleri olarak adlandırılan farklılaşmamış kök hücreler içeren primer tümörden hücre kültürlerini başarıyla izole ettiler. Bu hücreler besleyici hücelere ihtiyaç duymadan hızlı büyüme göstermiş ve bakımları kolay olmuştur. Daha sonra başka bir fare türünün blastosistlerine yapılan enjeksiyon, alıcı farede her üç germ katmanından dokular büyüdüğü için P19 hücrelerinin çok yönlülüğünü doğrulamıştır.

Orijinal P19 hücrelerinden P19S18, P19D3, P19RAC65 ve P19C16 dahil olmak üzere çeşitli alt tip hücre hatları türetilmiştir. Bu alt tiplerin her biri, sırasıyla retinoik asit veya DMSO ile muamele edildiğinde nöronal hücelere veya kas hücrelerine benzersiz farklılaşma yeteneklerine sahiptir. Daha yeni çalışmalar, P19 hücrelerinin pluripotensi sayesinde ektoderm, mezoderm ve endoderm benzeri hücelere dönüşebilen farklılaşmış P19 hücrelerinden türetilen hücre hatları üretmiştir.

P19 hücreleri serum destekli ortamda sürekli büyümeleriyle bilinirler. Farklılaşmaları retinoik asit gibi toksik olmayan ilaçlar kullanılarak etkili bir şekilde kontrol edilebilir ve nöron, astroglia ve mikrogliya gelişimine yol açar. Öte yandan, DMSO'ya maruz kalan P19 hücrelerinin agregatları, kalp ve iskelet kası dahil olmak üzere endodermal ve mezodermal türevlere farklılaşır. P19 hücreleri ayrıca rekombinant genleri kodlayan DNA ile transfeksiyona uygundur ve bu genleri ifade eden stabil hatlar uygun şekilde izole edilebilir. Bu şekillendirilebilirlik ve çok yönlülük, P19 hücrelerini farklılaşan pluripotent hücrelerin gelişimsel kararlarını yöneten moleküler mekanizmaları araştırmak için mükemmel bir kaynak haline getirmektedir.

Organism

Fare

Tissue

Testis

Disease

Teratokarsinom

Synonyms

P-19

Özellikler

P19 Hücreleri | 400416**Breed/Subspecies** C3H/He**Gender** Erkek**Morphology** Fibroblast benzeri**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** P19 (Cytion katalog numarası 400416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2153**Biyomoleküler Veriler****Karyotype** N = 40, xY**Elleçleme****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820400a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ortamı çıkarın ve yapışmış hücreleri kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS kullanarak durulayın (T25 için 3-5 ml PBS, T75 hücre kültürü şişeleri için 5-10 ml). TrypleExpress ekleyin (T25 başına 1-2 ml, T75 hücre kültürü şişesi başına 2,5 ml), hücre tabakası tamamen kaplanmalıdır. 37 santigrat derecede 10 dakika inkübe edin. Hücreleri dikkatlice yeniden süspanse edin, ortam ilavesi isteğe bağlıdır ancak gerekli değildir ve taze ortam içeren yeni şişelere dağıtın. Hücrelerin konfluent kalmasına izin vermeyin. En az her 48 saatte bir alt kültür yapın.**Split ratio** 1:10 oranı tavsiye edilir

P19 Hücreleri | 400416

Seeding density En az her 48 saatte bir alt kültür

Fluid renewal Her 2 günde bir

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C 'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C 'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı $300 \times g$ 'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere 37°C , %5 CO_2 , nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating Yok

Product sheet

P19 Hücreleri | 400416

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

STR profili

Amelogenin: x,x