

Cellules P19 | 400416

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire P19, un type de carcinome embryonnaire pluripotent, a été initialement obtenue à partir d'un tératocarcinome chez une souris de souche C3H/He. Cette lignée cellulaire de type épithélial présente une grande capacité de clonage lorsqu'elle est cultivée dans un milieu enrichi de 0,1 mM de β -mercaptoéthanol. Une caractéristique notable des cellules P19 est leur capacité à se différencier en cellules neuronales et gliales lorsqu'elles sont exposées à l'acide rétinoïque. Parallèlement, elles ont le potentiel de se transformer en muscles cardiaques et squelettiques lorsqu'elles sont exposées au diméthylsulfoxyde (DMSO). Lorsqu'elles sont soumises à la fois à l'acide rétinoïque et au DMSO, elles présentent principalement les caractéristiques d'une différenciation induite par l'acide rétinoïque.

La lignée cellulaire P19 provient de la souris (*Mus musculus*) et appartient à la classification générale suivante : Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata et Tetrapod. Ces cellules présentent la morphologie d'un tissu épithélial d'origine embryonnaire et sont associées à la maladie appelée tératocarcinome. Elles sont principalement utilisées dans des applications de culture cellulaire en 3D au sein de la catégorie de produits des cellules animales.

Bien que les cellules cancéreuses constituent une menace importante pour la santé en raison de leur croissance rapide et agressive, elles offrent également une ressource inestimable aux chercheurs qui étudient le développement des cellules cancéreuses et cherchent des traitements plus ciblés. En 1982, la lignée cellulaire P19 a été créée lorsque McBurney et Rogers ont transplanté un embryon de souris de 7,5 jours dans un testicule afin d'induire la croissance d'une tumeur. Ils ont réussi à isoler des cultures cellulaires à partir de la tumeur primaire contenant des cellules souches indifférenciées, appelées cellules de carcinome embryonnaire P19. Ces cellules présentaient une croissance rapide sans nécessiter de cellules nourricières et étaient faciles à cultiver. Une injection ultérieure dans des blastocystes d'une autre souche de souris a confirmé la multipotence des cellules P19, puisque des tissus issus des trois feuillets germinaux se sont développés chez la souris receveuse.

Plusieurs lignées cellulaires de sous-types ont été dérivées des cellules P19 d'origine, notamment les lignées P19S18, P19D3, P19RAC65 et P19C16. Chacun de ces sous-types possède des capacités de différenciation uniques en cellules neuronales ou musculaires lorsqu'il est traité respectivement avec de l'acide rétinoïque ou du DMSO. Des études plus récentes ont permis de générer des lignées cellulaires dérivées de cellules P19 différenciées qui, grâce à la pluripotence des cellules P19, peuvent se transformer en cellules de type ectoderme, mésoderme et endoderme.

Les cellules P19 sont connues pour leur croissance soutenue dans des milieux enrichis en sérum. Leur différenciation peut être contrôlée efficacement à l'aide de médicaments non toxiques tels que l'acide rétinoïque, ce qui conduit au développement de neurones, d'astrocytes et de microglies. D'autre part, les agrégats de cellules P19 exposés au DMSO se différencient en dérivés endodermiques et mésodermiques, notamment en muscles cardiaques et squelettiques. Les cellules P19 se prêtent également à la transfection avec de l'ADN codant pour des gènes recombinants, et des lignées stables exprimant ces gènes peuvent être facilement isolées. Cette malléabilité et cette polyvalence font des cellules P19 une excellente ressource pour l'étude des mécanismes moléculaires qui régissent les décisions développementales des cellules pluripotentes en cours de différenciation.

Organism Souris

Tissue Testicule

Cellules P19 | 400416

Disease Tératocarcinome

Synonyms P-19

Caractéristiques

Breed/Subspecies C3H/He

Gender Homme

Morphology De type fibroblaste

Growth properties Adepte

Données réglementaires

Citation P19 (numéro de catalogue Cytion 400416)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_2153

Données biomoléculaires

Karyotype N = 40, xY

Manipulation

Culture Medium DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de NaHCO₃ (référence Cytion 820400a)

Supplements Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation Reagent Accutase

Cellules P19 | 400416

Subculturing Retirez le milieu de culture et rincez les cellules adhérentes à l'aide de PBS sans calcium ni magnésium (3 à 5 ml de PBS pour les flacons de culture T25, 5 à 10 ml pour les flacons T75). Ajouter du TrypleExpress (1 à 2 ml par flacon de culture cellulaire T25, 2,5 ml par flacon T75); la couche cellulaire doit être entièrement recouverte. Incuber à 37 degrés Celsius pendant 10 minutes. Remettez soigneusement les cellules en suspension; l'ajout de milieu est facultatif mais non nécessaire, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais. Ne laissez pas les cellules atteindre la confluence. Effectuez une sous-culture au moins toutes les 48 heures.

Seeding density Effectuer une culture au moins toutes les 48 heures

Fluid renewal Tous les deux jours

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules P19 | 400416

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules P19 | 400416

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.