

Células P19 | 400416

Informações gerais

Description

A linhagem celular P19, um tipo de carcinoma embrionário pluripotente, foi inicialmente obtida a partir de um teratocarcinoma em um camundongo da linhagem C3H/He. Essa linhagem celular de tipo epitelial apresenta a capacidade de se clonar com alta eficiência quando cultivada em um meio contendo 0,1 mM de β -mercaptoetanol. Uma característica notável das células P19 é sua capacidade de se diferenciar em células neuronais e gliais quando expostas ao ácido retinóico. Simultaneamente, elas têm o potencial de se transformar em músculo cardíaco e esquelético quando expostas ao dimetilsulfóxido (DMSO). Quando submetidas tanto ao ácido retinóico quanto ao DMSO, elas apresentam predominantemente características de diferenciação induzida pelo ácido retinóico.

A linhagem celular P19 tem origem no camundongo (*Mus musculus*) e pertence à ampla classificação de Eukaryota, Animalia, Metazoa, Chordata, Vertebrata e Tetrapod. As células apresentam a morfologia de um tipo de tecido epitelial derivado do embrião e estão associadas à doença teratocarcinoma. Elas são utilizadas principalmente em aplicações de cultura celular 3D dentro da categoria de produtos de células animais.

Embora as células cancerosas representem uma ameaça significativa à saúde devido ao seu crescimento rápido e agressivo, elas também oferecem um recurso inestimável para pesquisadores que estudam o desenvolvimento de células cancerosas e buscam tratamentos mais direcionados. Em 1982, a linhagem celular P19 foi criada quando um embrião de camundongo com 7,5 dias foi transplantado para um testículo a fim de induzir o crescimento tumoral, por McBurney e Rogers. Eles isolaram com sucesso culturas celulares do tumor primário contendo células-tronco indiferenciadas, denominadas células de carcinoma embrionário P19. Essas células demonstraram crescimento rápido sem a necessidade de células alimentadoras e eram fáceis de manter. A injeção subsequente em blastocistos de outra linhagem de camundongo confirmou a multipotência das células P19, já que tecidos de todas as três camadas germinativas cresceram no camundongo receptor.

Várias linhagens celulares de subtipos foram derivadas das células P19 originais, incluindo P19S18, P19D3, P19RAC65 e P19C16. Cada um desses subtipos possui capacidades únicas de diferenciação em células neuronais ou musculares quando tratado com ácido retinóico ou DMSO, respectivamente. Estudos mais recentes geraram linhagens celulares derivadas de células P19 diferenciadas, as quais, devido à pluripotência das células P19, podem se transformar em células semelhantes ao ectoderma, mesoderma e endoderma.

As células P19 são conhecidas por seu crescimento sustentado em meios suplementados com soro. Sua diferenciação pode ser controlada de forma eficaz por meio de fármacos não tóxicos, como o ácido retinóico, levando ao desenvolvimento de neurônios, astrócitos e microglia. Por outro lado, agregados de células P19 expostos ao DMSO se diferenciam em derivados endodérmicos e mesodérmicos, incluindo músculos cardíaco e esquelético. As células P19 também são passíveis de transfecção com DNA que codifica genes recombinantes, e linhas estáveis que expressam esses genes podem ser convenientemente isoladas. Essa maleabilidade e versatilidade tornam as células P19 um excelente recurso para explorar os mecanismos moleculares que regem as decisões de desenvolvimento das células pluripotentes em diferenciação.

Organism Mouse

Tissue Testículo

Disease Teratocarcinoma

Synonyms P-19

Células P19 | 400416**Características****Breed/Subspecies** C3H/He**Gender** Masculino**Morphology** Semelhante a fibroblastos**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** P19 (número de catálogo da Cytion 400416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2153**Dados biomoleculares****Karyotype** N = 40, xY**Manuseio****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion 820400a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio e enxágue as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (3-5 ml de PBS para frascos de cultura celular T25, 5-10 ml para frascos T75). Adicione TrypleExpress (1 a 2 ml por frasco de cultura celular T25, 2,5 ml por frasco T75); a camada celular deve ficar totalmente coberta. Incube a 37 graus Celsius por 10 minutos. Ressuspender cuidadosamente as células; a adição de meio é opcional, mas não necessária, e transferir para novos frascos contendo meio fresco. Não permitir que as células permaneçam confluentes. Realizar subcultura pelo menos a cada 48 horas.

Células P19 | 400416

Seeding density Fazer um cultivo pelo menos a cada 48 horas

Fluid renewal A cada 2 dias

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Células P19 | 400416

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.