

小鼠畸胎瘤细胞

(P19)

细胞介绍

加拿大渥太华大学的 Me Burney 等在 1982 年从雄性小鼠畸胎瘤中分离得到的，是一种能够在体外培养的多能干细胞，P19 细胞团经 RA 诱导可分化成神经元、胶质细胞和纤维母细胞；而经二甲基亚砷(DM SO)诱导则分化成心肌、骨骼肌和平滑肌细胞；在 P19 细胞向神经元分化的过程中，神经发育相关基因的表达模式基本模拟了正常小鼠神经发育过程，因此，P19 目前被用作一个研究神经发育的体外模型。P19 细胞作为研究神经分化机制的模型，显著区别于其他细胞系的四大特点是：①它具有正常小鼠的二倍体核型，细胞分裂快，可在体外迅速大量扩增，多次传代也不丧失其分化能力。②P19 细胞具有多种分化潜力，不同诱导条件下可定向分化成不同类型的细胞，种植到孕鼠囊胚中能分化成多种类型细胞。③根据 P19 细胞诱导分化分阶段进行的特点，能将神经分化的早期机制与参与突起延伸的机制分开研究。④该细胞易于转染，且转染后仍能正常分化，适于进行细胞基因研究。通过转染正常或突变的的目的基因，增强或抑制它们的表达水平可用于研究这些基因在神经分化中的作用。另外，利用反义 RNA 阻断内源蛋白的表达，可用来观察这些蛋白在神经分化中的作用。

(references:

张金平等.全反式维甲酸体外诱导 P19 细胞向心肌方向分化.[J]中国组织化学与细胞化学杂志.2012.1

梅宇钦等.建立经优化的促 P19 鼠胚胎瘤细胞神经分化模型.浙江大学学报(医学版) 2012.04)

细胞特性

来源：胚胎；畸胎瘤

形态：上皮细胞样

含量：>1x10⁶ 个/mL

污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性

规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存：可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式：(1)干冰运输，收到后立即转入液氮冻存或直接复苏；(2)存活细胞，收到后应继续生长，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

细胞用途：仅供科研使用。

细胞培养步骤

一.培养基及培养冻存条件准备：

1. 准备 MEMa 培养基(MEMa+培养基(GIBCO,货号 11900024,添加 NaHCO₃1.5g 八,肌醇 43.2mg 八,叶酸 8.82mg 八,0-巯基乙醇 7.8mg 八), 90%; BCS, 7.5%;胎牛血清, 2.5%。
2. 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37摄氏度, 培养箱 湿度为 70%-80%。
冻存液: 90%完全培养基, 10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

二. 细胞处理:

复苏细胞: 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入 10cm 皿中, 加入约 8ml 培养基, 培养过夜)。第二天换液并检查细胞密度。

细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

对于贴壁细胞, 传代可参考以下方法:

1. 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2次。
2. 加 2 ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中, 置于 37C 培养箱中消化 1-2分钟, 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落, 迅速拿回操作台, 轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。
3. 按 6-8ml/瓶补加培养基, 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀。
4. 将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

对于悬浮细胞, 传代可参考以下方法:

方法一: 收集细胞, 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀, 将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

方法二: 可选择半数换液方式, 弃去半数培养基后, 将剩余细胞悬起, 将细胞悬液按 1: 2 到 1: 3 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

细胞冻存: 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时, 弃去培养基后加入少量胰酶, 细胞变圆脱落后, 加入约 1ml 含血清的培养基后加入冻存管中, 再添加 10%DMSO 后进行冻存。悬浮细胞冻存时, 应将细胞收集, 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 少量保存上清液(防止细胞吸走), 加入部分新鲜培养基, 加入到冻存管中, 在冻存管中加入 10%DMSO 后进行冻存。

注意事项:

收到细胞后, 若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染, 请立即与我们联系。

所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性, 必须在二级生物安全台内操作, 并注意防护, 所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。

