

Клетки NE-4C | 305182

Обща информация

Description

Клетките NE-4C представляват миши невроектодермална стволова клетъчна линия, получена от мозъчните везикули на ембрионална мозъчна тъкан на мишка. Клетъчната линия е широко призната за способността си да претърпява невронна диференциация при определени експериментални условия, което я превръща в ценен *in vitro* модел за изследвания на неврогенезата, неврологичното развитие и определянето на невронната линия. Клетките NE-4C проявяват характеристики на невронни прогениторни клетки и могат да бъдат индуцирани да се диференцират в невроноподобни клетки чрез третиране с агенти като ретиноева киселина, което води до морфологични и молекулярни промени, свързани с невронното съзряване.

По време на диференциацията клетките NE-4C развиват удължени невритоподобни израстъци и експресират невронални маркери, включително β III-тубулин, MAP2 и неврофиламентни протеини, в зависимост от използвания протокол за диференциация. Поради относително хомогенното си поведение при диференциация и възпроизводимата реакция към индуктивни стимули, клетките NE-4C често се използват за изследване на сигнални пътища, участващи в невронната спецификация, синаптичното развитие, невротоксичността, реакциите към оксидативния стрес и невропротективните механизми. Моделът е бил прилаган и в изследвания на механизмите на невродегенеративните заболявания, невробиологията на развитието и скрининга на съединения, влияещи върху невроналната диференциация или оцеляването.

Organism

Мишка

Tissue

Мозък, невроектодерма

Характеристики

Breed/Subspecies

C57BL/6 x 129/Sv-Trp53-/-

Age

Ембрион

Morphology

Невроепителиален

Growth properties

Придържащи се

Регулаторни данни

Citation

NE-4C (каталожен номер на Cytion 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

Клетки NE-4C | 305182

CellosaurusAccession CVCL_B063

Биомолекулярни данни

Antigen expression Sox-2, Otx-2, En-1

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Seeding density** 1 до 3×10^4 клетки/cm²**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NE-4C | 305182**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NE-4C | 305182

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.