

NG108-15 buňky | 305844

Obecné informace

Description

Buněčná linie NG108-15 je dobře charakterizovaná hybridní buněčná linie neuroblastomu a gliomu, která vznikla fúzí klonu myšního neuroblastomu N18TG2 s klonem krysího gliomu C6-BU-1. Výsledkem této fúze je buněčný typ, který výrazně projevuje řadu neuronálních vlastností, díky čemuž je NG108-15 široce používaným modelem pro neurobiologický a neurofarmakologický výzkum. Hybridní buňky vykazují vysoký stupeň elektrické dráždivosti a exprimují neuronální enzymy, jako je cholinacetyltransferáza, což umožňuje syntézu, ukládání a uvolňování acetylcholinu. Tyto buňky tvoří rozsáhlé výběžky a jsou schopné generovat akční potenciály v reakci na elektrickou nebo chemickou stimulaci.

Bylo prokázáno, že buňky NG108-15 tvoří funkční chemické synapse se svalovými buňkami, včetně primárních myotubů z myších embryí i klonálních linií myotubů, jako je G-8. V systémech společné kultivace mohou buňky NG108-15 inervovat myotuby a vytvářet synaptické potenciály v reakci na vyvolané akční potenciály. Tyto reakce jsou závislé na acetylcholinu a mohou být blokovány d-tubokurarinem, což potvrzuje cholinergní povahu synapsí. Je třeba poznamenat, že účinnost synaptického přenosu se liší, ale zůstává fyziologicky významná, přičemž významná část hybridních akčních potenciálů úspěšně indukuje depolarizaci svalů. Postsynaptické reakce jsou velmi podobné iontoforetické aplikaci acetylcholinu, což dále podporuje jejich cholinergní identitu.

Buňky NG108-15 jsou velké, neuronům podobné buňky s výběžky a morfologií podobnou neuroblastomu. Vykazují karyotypické rysy myší i potkanů a vykazují hybridní izoenzymové vzorce v souladu s jejich smíšeným genetickým pozadím. Tyto buňky si zachovávají neuronům podobné fenotypy i při vyšším počtu pasáží, ačkoli některé vlastnosti, jako je aktivita cholinacetyltransferázy, mohou s časem klesat. Celkově jsou buňky NG108-15 považovány za robustní in vitro model pro studium neuronální diferenciaci, neurotransmise a synaptogeneze, zejména v kontextu signalizace zprostředkované acetylcholinem.

Organism Myš

Tissue Mozek

Disease Glioblastom

Synonyms NG108-15, NG-108-15, NG 108-15, NG10815

Charakteristika

Morphology Ploché; kulaté; průměr 10 až 100 mikrometrů

Cell type Hybrid somatických buněk

Growth properties Přilnavost/suspenze

Regulační údaje

NG108-15 buňky | 305844

Citation NG108-15 (katalogové číslo Cytion 305844)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0464

Biomolekulární data

Mutational profile

Zpracování

Culture Medium

Médium: Základním médiem pro tuto buněčnou linii je Dulbeccovo modifikované Eagleovo médium (GIBCO/Invitrogen, katalogové číslo 12100-061, DMEM bez pyruvátu sodného). Pro přípravu kompletního růstového média přidejte do základního média následující složky:

- 0,1 mM hypoxanthin (konečná koncentrace)
- 400 nM aminopterinu (konečná koncentrace)
- 0,016 mM thymidinu (konečná koncentrace)
- 10 % fetální bovinní sérum (konečná koncentrace)
- 1,5 g/l hydrogenuhličitanu sodného

Dissociation Reagent Accutase

Seeding density 1 až 3×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

NG108-15 buňky | 305844

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Skladování při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

NG108-15 buňky | 305844

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.