

Buňky NE-4C | 305182

Obecné informace

Description

Buňky NE-4C představují myší neuroektodermální kmenovou buněčnou linii odvozenou z mozkových váčků embryonální mozkové tkáně myši. Tato buněčná linie je všeobecně uznávána pro svou schopnost podstupovat neuronální diferenciaci za definovaných experimentálních podmínek, což z ní činí cenný in vitro model pro studium neurogeneze, nervového vývoje a určení neuronální linie. Buňky NE-4C vykazují charakteristiky neurálních progenitorových buněk a lze je indukovat k diferenciaci na buňky podobné neuronům pomocí látek, jako je kyselina retinová, což vede k morfologickým a molekulárním změnám spojeným s neuronálním dozráváním.

Během diferenciaci vyvíjejí buňky NE-4C prodloužené výhonky podobné neuritům a exprimují neuronální markery, včetně β III-tubulinu, MAP2 a neurofilamentových proteinů, v závislosti na použitém diferenciačním protokolu. Díky svému relativně homogennímu diferenciačnímu chování a reprodukovatelné reakci na indukční podněty se buňky NE-4C běžně používají ke zkoumání signálních drah zapojených do neurální specifikace, vývoje synapsí, neurotoxicity, reakcí na oxidační stres a neuroprotektivních mechanismů. Tento model byl rovněž použit ve studiích mechanismů neurodegenerativních onemocnění, vývojové neurobiologie a při screeningu sloučenin ovlivňujících diferenciaci nebo přežití neuronů.

Organism Myš**Tissue** Mozek, neuroektodermální

Charakteristika

Breed/Subspecies C57BL/6 x 129/Sv-Trp53/-**Age** Embrya**Morphology** Neuroepiteliální**Growth properties** Adherentní

Regulační údaje

Citation NE-4C (katalogové číslo Cytion 305182)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_B063

Buňky NE-4C | 305182

Biomolekulární data

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

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
--------------------	--------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	--

Split ratio	1:4 až 1:10
--------------------	-------------

Seeding density	1 až 3×10^4 buněk/cm ²
------------------------	--

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.
----------------------	--

Buňky NE-4C | 305182**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 °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 °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 x 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 °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 °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 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky NE-4C | 305182

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 vizuálnímu kontrolám.