

NE-4C-Zellen | 305182

Allgemeine Informationen

Description

NE-4C-Zellen sind eine murine neuroektodermale Stammzelllinie, die aus den Hirnbläschen von embryonalem Maushirngewebe gewonnen wurde. Die Zelllinie ist weithin für ihre Fähigkeit bekannt, unter definierten Versuchsbedingungen eine neuronale Differenzierung zu durchlaufen, was sie zu einem wertvollen In-vitro-Modell für Untersuchungen zur Neurogenese, zur neuronalen Entwicklung und zur Festlegung der neuronalen Abstammungslinie macht. NE-4C-Zellen weisen Merkmale neuraler Vorläuferzellen auf und können durch Behandlung mit Wirkstoffen wie Retinsäure zur Differenzierung in neuronähnliche Zellen angeregt werden, was zu morphologischen und molekularen Veränderungen führt, die mit der neuronalen Reifung einhergehen.

Während der Differenzierung entwickeln NE-4C-Zellen ausgedehnte neuritähnliche Fortsätze und exprimieren neuronale Marker wie β III-Tubulin, MAP2 und Neurofilamentproteine, abhängig vom verwendeten Differenzierungsprotokoll. Aufgrund ihres relativ homogenen Differenzierungsverhaltens und ihrer reproduzierbaren Reaktion auf induktive Stimuli werden NE-4C-Zellen häufig zur Untersuchung von Signalwegen eingesetzt, die an der neuronalen Spezifizierung, der synaptischen Entwicklung, der Neurotoxizität, Reaktionen auf oxidativen Stress und neuroprotektiven Mechanismen beteiligt sind. Das Modell wurde zudem in Studien zu den Mechanismen neurodegenerativer Erkrankungen, zur Entwicklungsneurobiologie sowie zum Screening von Wirkstoffen, die die neuronale Differenzierung oder das Überleben von Neuronen beeinflussen, eingesetzt.

Organism

Maus

Tissue

Gehirn, neuroektodermal

Merkmale

Breed/Subspecies

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

Age

Embryo

Morphology

Neuroepithelial

Growth properties

Adhärent

Regulatorische Daten

Citation

NE-4C (Cytion-Katalognummer 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

NE-4C-Zellen | 305182

CellosaurusAccession CVCL_B063

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** 1:4 bis 1:10**Seeding density** 1 bis 3×10^4 Zellen/cm²**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

NE-4C-Zellen | 305182

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO₂}, befeuchtete Atmosphäre.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

NE-4C-Zellen | 305182

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.