

Κύτταρα NE-4C | 305182

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα NE-4C αποτελούν μια σειρά ποντικών νευροεκτοδερμικών βλαστικών κυττάρων που προέρχονται από τις εγκεφαλικές κύστεις εμβρυϊκού ιστού εγκεφάλου ποντικού. Η κυτταρική σειρά είναι ευρέως αναγνωρισμένη για την ικανότητά της να υφίσταται νευρωνική διαφοροποίηση υπό καθορισμένες πειραματικές συνθήκες, γεγονός που την καθιστά ένα πολύτιμο *in vitro* μοντέλο για μελέτες σχετικά με τη νευρογένεση, τη νευρική ανάπτυξη και την καθοδήγηση της νευρωνικής γραμμής. Τα κύτταρα NE-4C παρουσιάζουν χαρακτηριστικά νευρικών προγονικών κυττάρων και μπορούν να υποστούν επαγωγή ώστε να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα τύπου νευρώνα μέσω της επεξεργασίας με παράγοντες όπως το ρετινοϊκό οξύ, με αποτέλεσμα μορφολογικές και μοριακές αλλαγές που σχετίζονται με τη νευρωνική ωρίμανση.

Κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης, τα κύτταρα NE-4C αναπτύσσουν εκτεταμένες νευριτοειδείς απολήξεις και εκφράζουν νευρωνικούς δείκτες, όπως η βIII-τουμπουλίνη, η MAP2 και οι πρωτεΐνες νευροφιλαμεντών, ανάλογα με το πρωτόκολλο διαφοροποίησης που χρησιμοποιείται. Λόγω της σχετικά ομοιογενούς συμπεριφοράς διαφοροποίησής τους και της αναπαραγωγίμης απόκρισης σε επαγωγικά ερεθίσματα, τα κύτταρα NE-4C χρησιμοποιούνται συνήθως για τη διερεύνηση των οδών σηματοδότησης που εμπλέκονται στη νευρική εξειδίκευση, τη συναπτική ανάπτυξη, τη νευροτοξικότητα, τις αποκρίσεις στο οξειδωτικό στρες και τους νευροπροστατευτικούς μηχανισμούς. Το μοντέλο αυτό έχει επίσης εφαρμοστεί σε μελέτες των μηχανισμών των νευροεκφυλιστικών ασθενειών, της αναπτυξιακής νευροβιολογίας και του ελέγχου ενώσεων που επηρεάζουν τη νευρωνική διαφοροποίηση ή επιβίωση.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Εγκέφαλος, Νευροεκτοδερμικός

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

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

Age

Έμβρυο

Morphology

Νευροεπιθηλιακό

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation

NE-4C (Αριθμός καταλόγου Cytion 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

Κύτταρα NE-4C | 305182

CellosaurusAccession CVCL_B063

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Seeding density** 1 έως 3×10^4 κύτταρα/cm²**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Shipping
Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Κύτταρα NE-4C | 305182

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.