

Neuro2a-Luc-rakud | 305690

Üldine teave

Description

Neuro-2a-Luc on hiire neuroblastoomi rakuliini Neuro-2a (N2a) lucifereesi ekspresseeriv derivaat. Neuro-2a rakud pärinevad hiire neuraalkreestist saadud neuroblastoomi koest ning neid kasutatakse laialdaselt in vitro mudelina neuronite diferentseerumise, neurotoksilisuse uuringute, signaaliülekanne uurimise ja neuroonkoloogiliste uuringute jaoks. Lusiferaasi reportergeeni stabiilne ekspressioon võimaldab eluvõimeliste rakkude ja rakulise aktiivsuse tundlikku, kvantitatiivset bioluminestsentsdetekteerimist, mis teeb Neuro-2a-Luc eriti kasulikuks pikaajaliseks jälgimiseks nii in vitro kui ka in vivo eksperimentaalsetes süsteemides. Sõltuvalt reportergeeni disainist võib lusiferaasi ekspressioon olla konstitutiivne või seotud signaalitee-spetsiifilise promootori aktiivsusega.

Neuro-2a-Luc-rakke kasutatakse tavaliselt rakendustes, mis hõlmavad kasvajate kasvu jälgimist, suure läbilaskevõimega ravimite sõelumist, nävirakkude diferentseerumise analüüse ja ravivastuse reaajas hindamist. Ksenotransplantaadi- ja metastaasimudelites võimaldab lusiferase-põhine bioluminestsentskuvamine jälgida mitteinvasiivselt kasvajate koormust ja haiguse progresseerumist suure tundlikkusega. Neuro-2a-põhiseid süsteeme kasutatakse laialdaselt ka neuronite morfoloogia, neurite väljakasvu, apoptoosi, oksüdatiivse stressi ja neurodegeneratiivsete haigustega seotud mehhanismide uurimiseks. Lusiferaasi modifikatsioon hõlbustab rakkude proliferatsiooni, tsütotoksilisuse, transkriptsioonilise aktiivsuse või signaalitee modulatsiooni kiiret kvantitatiivset analüüsi vastusena farmakoloogilistele või geneetilistele häiretele.

Nagu teistegi inseneri teel loodud reporterrakuliinide puhul, võib Neuro-2a-Luc eksperimentaalne toimivus sõltuda sellistest teguritest nagu lusiferaasi konstrukti integratsioonikoht, promootori konfiguratsioon, substraadi ühilduvus ja reportergeeni ekspressiooni stabiilsus järjestikuste passaažide jooksul. Kõrgelt spetsialiseeritud eksperimentaalsete rakenduste jaoks võivad olla vajalikud täiendavad iseloomustavad andmed, sealhulgas üksikasjad lusiferaasi variandi, selektsioonimarkeri ja valideerimiskatsete kohta.

Organism Hiir

Tissue Perifeerne närvisüsteem

Disease Neuroblastoom

Synonyms Neuro2A-Luc

Omadused

Gender Mees

Cell type Neuronaalsed ja amoeboidsed tüvirakud

Growth properties Kinnipeetav

Neuro2a-Luc-rakud | 305690

Regulatiivsed andmed

Citation Neuro-2a-Luc (Cytioni katalooginumber 305690)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_K046

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression Luc

Antigen expression H-2a

Viruses Ektromelia viirus (hiireviirus): negatiivne

Virus resistance Poliovirus 1

Reverse transcriptase Negatiivne

Products Tubuliin, atsetüülkoliinesteraas

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent Accutase

Neuro2a-Luc-rakud | 305690

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density $1-3 \times 10^4$ rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Neuro2a-Luc-rakud | 305690

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA