

NG108-15 rakud | 305844

Üldine teave

Description

Rakuliin NG108-15 on hästi iseloomustatud neuroblastoomi ja glioomi hübriidrakuliin, mis on saadud hiire neuroblastoomi kloni N18TG2 ja roti glioomi kloni C6-BU-1 ühendamisel. Selle ühendamise tulemusena tekib rakutüüp, mis väljendab tugevalt mitmesuguseid neuronilaadseid omadusi, mistõttu on NG108-15 laialdaselt kasutatav mudel neurobioloogilistes ja neurofarmakoloogilistes uuringutes. Hübriidrakudel on kõrge elektriline erutuvus ja need ekspresseerivad neuronaalseid ensüüme, nagu koliiniatsetüültransferaasi, mis võimaldab atsetüülkoliini sünteesi, ladustamist ja vabanemist. Need rakud moodustavad ulatuslikke väljasopistusi ja on võimelised tekitama aktsioonipotentsiaale vastusena elektrilisele või keemilisele stimulatsioonile.

On näidatud, et NG108-15 rakud moodustavad funktsionaalseid keemilisi sünapseid lihasrakkudega, sealhulgas nii esmaste hiire embrüonaalsete müotubustega kui ka kloonitud müotubuste liinidega, nagu G-8. Ko-kultuuri süsteemides suudavad NG108-15 rakud innerveerida müotubuseid, tekitades sünaptilisi potentsiaale vastusena esile kutsutud aktsioonipotentsiaalidele. Need reaktsioonid sõltuvad atsetüülkoliinist ja neid saab blokeerida d-tubokurariiniga, mis kinnitab sünapside kolinergilist olemust. Tuleb märkida, et sünaptilise ülekande efektiivsus varieerub, kuid jääb füsioloogiliselt oluliseks, kusjuures märkimisväärne osa hübriid-aktsioonipotentsiaalidest indutseerib edukalt lihaste depolarisatsiooni. Postsünaptilisi reaktsioone jälgendab hästi atsetüülkoliini iontoforeetiline manustamine, mis toetab veelgi nende kolinergilist olemust.

NG108-15 rakud on suured, neuronitaolised rakud, millel on väljasopistused ja neuroblastoomi sarnane morfoloogia. Neil on nii hiire kui ka roti kariotüübilisi tunnuseid ning nad näitavad hübriidseid isotsüümimustreid, mis on kooskõlas nende segatud geneetilise taustaga. Need rakud säilitavad neuronitaolised fenotüübid isegi suurema passaažiarvu juures, kuigi mõned omadused, nagu koliiniatsetüültransferaasi aktiivsus, võivad aja jooksul väheneda. Üldiselt peetakse NG108-15 rakke usaldusväärseks in vitro mudeliks neuronite diferentseerumise, neurotransmissiooni ja sünaptogeneesi uurimiseks, eriti atsetüülkoliini vahendatud signaalimise kontekstis.

Organism Hiir

Tissue Aju

Disease Glioblastoom

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

Omadused

Morphology Lame; ümmargune; läbimõõduga 10–100 mikromeetrit

Cell type Somaatiliste rakkude hübriid

Growth properties Kinni jääv/suspensioon

NG108-15 rakud | 305844

Regulatiivsed andmed

Citation	NG108-15 (Cytioni katalooginumber 305844)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0464

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile

Töötlemine

Culture Medium	<p>Kasvatuskeskkond: Selle rakuliini põhikeskkonnaks on Dulbecco modifitseeritud Eagle'i keskkond (GIBCO/InVitrogen katalooginumber 12100-061, DMEM ilma naatriumpüruvaadita). Täieliku kasvatuskeskkonda valmistamiseks lisage põhikeskkonnale järgmised komponendid:</p> <ul style="list-style-type: none">• 0,1 mM hüpoksaantiin (lõplik kontsentratsioon)• 400 nM aminopteriin (lõppkontsentratsioon)• 0,016 mM tümiin (lõppkontsentratsioon)• 10% loote veise seerumit (lõplik kontsentratsioon)• 1,5 g/l naatriumvesinikkarbonaati
Dissociation Reagent	Accutase
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüs säilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NG108-15 rakud | 305844

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Säilitamine temperatuuril $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

NG108-15 rakud | 305844

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.