

NE-4C rakud | 305182

Üldine teave

Description

NE-4C-rakud on hiire neuroektodermaalne tüvirakuliin, mis on saadud hiire embrüonaalse ajukoe ajuvesiklitest. Seda rakuliini tunnustatakse laialdaselt selle võime poolest läbida neuronaalne diferentseerumine kindlaksmääratud katsetingimustes, mis teeb sellest väärtusliku in vitro mudeli neurogeneesi, närvisüsteemi arengu ja neuronaalse liini kindlaksmääramise uurimiseks. NE-4C-rakud ilmutavad närvi-eellaste omadusi ning neid on võimalik indutseerida diferentseeruma neuroni-sarnasteks rakkudeks, kasutades selleks näiteks retinoehapet, mille tulemusena toimuvad neuroni küpsemisega seotud morfoloogilised ja molekulaarsed muutused.

Diferentseerumise käigus arendavad NE-4C-rakud välja pikad neuritiidilaadsed väljasopistused ja ekspresseerivad neuronaalseid markereid, sealhulgas β III-tubuliini, MAP2-d ja neurofilamentvalke, sõltuvalt kasutatavast diferentseerumisprotokollist. Tänu suhteliselt ühtlasele diferentseerumiskäitumisele ja indutseerivatele stiimulitele antavale korratavale reaktsioonile kasutatakse NE-4C-rakke sageli närvirakkude spetsialiseerumises, sünaptilises arengus, neurotoksilisuses, oksüdatiivse stressi reaktsioonides ja neuroprotektiivsetes mehhanismides osalevate signaaliteede uurimiseks. Seda mudelit on kasutatud ka neurodegeneratiivsete haiguste mehhanismide, arenguneurobioloogia ning neuronite diferentseerumist või ellujäämist mõjutavate ühendite sõelumise uuringutes.

Organism

Hiir

Tissue

Aju, neuroektodermaalne

Omadused

Breed/Subspecies

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

Age

Embrüo

Morphology

Neuroepiteelne

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

NE-4C (Cytioni katalooginumbr 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

NE-4C rakud | 305182

CellosaurusAccession CVCL_B063

Biomolekulaarsed andmed

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

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**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel 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 kuni 3×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena 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.

NE-4C rakud | 305182

**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 rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate 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°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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

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

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

NE-4C rakud | 305182

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.