

NE-4C-solut | 305182

Yleisiä tietoja

Description

NE-4C-solut ovat hiiren neuroektodermaalinen kantasolulinja, joka on peräisin hiiren alkion aivokudoksen aivorakkuloista. Solulinja tunnetaan laajalti kyvystään erilaistua hermosoluiksi määritellyissä koeolosuhteissa, mikä tekee siitä arvokkaan in vitro -mallin neurogeneesin, hermoston kehityksen ja hermosolulinjan erilaistumisen tutkimuksille. NE-4C-solut osoittavat hermosolujen esisolujen ominaisuuksia, ja ne voidaan saada erilaistumaan hermosolujen kaltaisiksi soluiksi esimerkiksi retinoiinihapon kaltaisten aineiden avulla, mikä johtaa hermosolujen kypsymiseen liittyviin morfologisiin ja molekyyllitason muutoksiin.

Eriytyksen aikana NE-4C-solut kehittävät pitkänomaisia neuritin kaltaisia ulokkeita ja ilmentävät hermosolujen merkkiaineita, kuten β III-tubuliinia, MAP2:ta ja neurofilamenttiproteiineja, käytetystä erilaistumisprotokollasta riippuen. Suhteellisen homogeenisen erilaistumiskäyttäytymisensä ja toistettavan vasteensa induktiivisiin ärsykkeisiin ansiosta NE-4C-soluja käytetään yleisesti tutkimaan signaalireitettä, jotka liittyvät hermosolujen erilaistumiseen, synapsien kehitykseen, neurotoksisuuteen, oksidatiivisen stressin vasteisiin ja hermosoluja suojaaviin mekanismeihin. Mallia on sovellettu myös neurodegeneratiivisten sairauksien mekanismien tutkimuksessa, kehityksellisessä neurobiologiassa sekä hermosolujen erilaistumiseen tai selviytymiseen vaikuttavien yhdisteiden seulonnassa.

Organism

Hiiri

Tissue

Aivot, neuroektoderma

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

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

Age

Alkio

Morphology

Neuroepiteelinen

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

NE-4C (Cytion-tuotenumero 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_B063

NE-4C-solut | 305182

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
---------------------	---

Seeding density	1-3 x 10 ⁴ solua/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
----------------------	---------------------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

NE-4C-solut | 305182

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

NE-4C-solut | 305182

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.