

Neuro-2a-solut | 400394

Yleisiä tietoja

Description

Neuro-2a-solulinja, josta käytetään usein lyhennettä N2A-solut, on hiiren neuroblastooma-solulinja, joka on peräisin hermorungosta. Nämä solut ovat tunnettuja nopeasta lisääntymisestään ja kyvystään erilaistua hermosolujen kaltaisiksi soluiksi tietyissä olosuhteissa, mikä tekee niistä arvokkaan mallin neurogeneesin ja hermosolujen erilaistumisen tutkimiseen. Neuro-2a-soluilla on hermosoluille eli neuroblasteille tyypillisiä ominaisuuksia, jotka ovat täysin erilaistuneiden hermosolujen esiasteita.

Yksi hiiren Neuro 2a -solujen tärkeimmistä ominaisuuksista on niiden käyttökelpoisuus erilaistumismekanismien tutkimisessa erityisesti dopaminergisten hermosolujen yhteydessä. Nämä solut voidaan saada ilmentämään dopamiiniinereseptoreille tyypillisiä merkkiaineita, kuten dopamiinin kuljettajaa ja dopamiiniinereptorien lokalisaatioon osallistuvia proteiineja. Tämä tekee N2A-solulinjasta olennaisen työkalun tutkimuksiin, jotka liittyvät normaaliin neuroendokriiniseen järjestelmään ja dopaminergiseen signaalointiin liittyviin häiriöihin.

N2A-solulinja tarjoaa myös tietoa eri geenien ja proteiinien roolista hermosolujen toiminnassa ja kehityksessä. Esimerkiksi DNMT3A-geeniä, joka tunnetaan osallistumisestaan DNA-metylaatioprosesseihin, on tutkittu Neuro-2a-soluissa sen vaikutuksen ymmärtämiseksi hermosoluihin ja hermoston kehitysprosesseihin. Ihmisen kilpirauhashormonireseptorin ilmentyminen näissä soluissa antaa tutkijoille mahdollisuuden tutkia kilpirauhashormonivasteeseen ja sen vaikutusta hermoston kehitykseen ja neuroblastoomasolujen erilaistumiseen kypsemiksi hermosolujen fenotyypeiksi. Proteiinikinaasien signaalointireitit ovat toinen N2A-soluissa intensiivisesti tutkittu alue, koska niillä on kriittinen rooli erilaisten soluprosessien, kuten solujen kasvun, erilaistumisen ja solunulkoisiin signaaleihin reagoimisen, välittämisessä.

Yhteenvetona voidaan todeta, että hiiren neuroblastoomasta peräisin oleva Neuro-2a (N2A) -solulinja toimii monipuolisena mallina neurogeneesin, hermosolujen erilaistumisen ja dopaminergisen signaaloinnin tutkimiseen, mikä antaa arvokasta tietoa neurologisten kehitysprosessien ja neuroendokriinisten häiriöiden molekulaarisista taustatekijöistä.

Organism

Hiiri

Disease

Neuroblastooma

Synonyms

NEURO-2A, Neuro 2a, Neuro2a, Neuro2a, Neuro2A, N-2a, N2a, N2A, Nb2a, NB2a

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

A/J

Cell type

Neuronaaliset ja amoeboidiset kantasolut

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Neuro-2a-solut | 400394

Citation Neuro-2a (Cytionin luettelonumero 400394)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0470

Biomolekyylitiedot

Antigen expression H-2a**Viruses** Ectromelia-virus (hiiren rokko): negatiivinen**Virus resistance** Poliovirus 1**Reverse transcriptase** Negatiivinen**Products** Tubuliini, asetyylikoliiniesteraasi

Käsittely

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, 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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Split ratio** Suositeltava suhde on 1:4

Neuro-2a-solut | 400394

Seeding density 1×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 1-2 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäällä, 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 mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä 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 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Neuro-2a-solut | 400394

Flask Coating Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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

Sterility

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

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

STR-profiili

Amelogenin: x,x

M_18-3: 22

M_4-2: 21.3, 22.3

M_6-7: 12

M_3-2: 13,14

M_19-2: 12

M_7-1: 25. helmikuuta

M_1-1: 11

M_8-1: 16,17

M_2-1: 16

M_15-3: 21.3, 22.3, 23.3

M_6-4: 18,2

M_11-2: 15,16

M_1-2: 17,18

M_17-2: 16

M_12-1: 16

M_5-5: 15,17

M_X-1: 26,27

M_13-1: 16.2, 17.2

Human D4/D8: -