

NE-4C sejtek | 305182

Általános információk

Description

A NE-4C sejtek egy egér neuroektodermális őssejtvonalt, amelyet embrionális egér agyszövet agyi hólyagjaiból nyertek ki. A sejtvonalt széles körben elismerik arról, hogy meghatározott kísérleti körülmények között képes idegsejteké differenciálódni, ami értékes in vitro modellé teszi a neurogenesis, az idegrendszeri fejlődés és az idegsejt-vonal kialakulásának vizsgálatához. A NE-4C sejtek az idegsejtek jellemzőit mutatják, és olyan hatóanyagokkal, mint például a retinsav, indukálhatók neuron-szerű sejtekké történő differenciálódásra, ami az idegsejtek éréséhez kapcsolódó morfológiai és molekuláris változásokat eredményez.

A differenciálódás során a NE-4C sejtek kiterjedt neurit-szerű nyúlványokat fejlesztenek ki, és a használt differenciálódási protokolltól függően neuronális markereket fejeznek ki, beleértve a β III-tubulint, a MAP2-t és a neurofilament fehérjéket. Viszonylag homogén differenciálódási viselkedésük és az induktív ingerekre adott reprodukálható válaszuk miatt a NE-4C sejteket széles körben használják az idegrendszeri specializációban, a szinaptikus fejlődésben, a neurotoxicitásban, az oxidatív stresszre adott válaszokban és a neuroprotektív mechanizmusokban részt vevő jelátviteli útvonalak vizsgálatára. A modellt alkalmazták továbbá a neurodegeneratív betegségek mechanizmusainak, a fejlődési neurobiológiának, valamint az idegsejt-differenciálódást vagy túlélést befolyásoló vegyületek szűrésének vizsgálatában is.

Organism Egér

Tissue Agy, neuroektodermális

Jellemzők

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

Age Embrió

Morphology Neuroepiteliális

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation NE-4C (Cytion katalógusszám: 305182)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_B063

NE-4C sejtek | 305182

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
-----------------------	--

Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
--------------------	---

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

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

Seeding density	$1-3 \times 10^4$ sejt/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.
----------------------	--

NE-4C sejtek | 305182

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

NE-4C sejtek | 305182

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.