

NE-4C ląstelės | 305182

Bendra informacija

Description

NE-4C ląstelės yra pelių neuroektoderminių kamieninių ląstelių linija, gauta iš pelių embrionų smegenų audinio smegeninių pūslelių. Ši ląstelių linija plačiai pripažįstama dėl savo gebėjimo diferencijuotis į neuronus nustatytomis eksperimentinėmis sąlygomis, todėl ji yra vertingas in vitro modelis neurogenezės, nervų sistemos vystymosi ir neuronų linijos specializacijos tyrimams. NE-4C ląstelės pasižymi nervinių progenitorinių ląstelių savybėmis ir gali būti indukuotos diferencijuotis į neuronams panašias ląsteles, jas veikiant tokiais agentais kaip retinoinė rūgštis, o tai sukelia morfologinius ir molekulinis pokyčius, susijusius su neuronų brendimu.

Diferenciacijos metu NE-4C ląstelės išaugina išilginius neuritams panašius ataugus ir, priklausomai nuo taikomo diferenciacijos protokolo, ekspresuoja neuroninius žymeklius, įskaitant β III-tubuliną, MAP2 ir neurofilamentų baltymus. Dėl savo palyginti vienodo diferenciacijos elgesio ir atkartojamo atsako į indukcinis dirgiklius NE-4C ląstelės dažnai naudojamos signalinių kelių, susijusių su nervų ląstelių specifikacija, sinapsų vystymusi, neurotoksinio poveikiu, oksidacinio streso reakcijomis ir neuroprotektiniais mechanizmais, tyrimams. Šis modelis taip pat taikomas neurodegeneracinių ligų mechanizmų, vystymosi neurobiologijos tyrimams bei junginių, veikiančių neuronų diferenciaciją ar išlikimą, atrankai.

Organism

Pelė

Tissue

Smegenys, neuroektodermalinės

Charakteristikos

Breed/Subspecies

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

Age

Embrionas

Morphology

Neuroepitelinis

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

NE-4C (Cytion katalogo numeris 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_B063

NE-4C ląstelės | 305182

Biomolekuliniai duomenys

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

Tvarkymas

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

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
--------------------	--

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

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	---

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

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

NE-4C ląstelės | 305182

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

NE-4C ląstelės | 305182

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.