

NE-4C šūnas | 305182

Vispārīga informācija

Description

NE-4C šūnas ir peles neuroektodermālo cilmes šūnu līnija, kas iegūta no embrionāla peles smadzeņu auda smadzeņu pūslīšiem. Šī šūnu līnija ir plaši atzīta par tās spēju diferencēties par neironiem noteiktos eksperimentālos apstākļos, tādējādi padarot to par vērtīgu in vitro modeli neuroģenēzes, neiroloģiskās attīstības un neironu ciltskoka specializācijas pētījumiem. NE-4C šūnas uzrāda neironu priekšteču šūnu īpašības, un tās var inducēt diferencēties neironveidīgās šūnās, apstrādājot ar tādiem līdzekļiem kā retinoīnskābe, kas izraisa morfoloģiskas un molekulāras izmaiņas, kas saistītas ar neironu nobriešanu.

Diferencēšanās laikā NE-4C šūnas attīsta izstieptus neirītu līdzīgus izaugumus un ekspresē neironu marķierus, tostarp β III-tubulīnu, MAP2 un neurofilamentu proteīnus, atkarībā no izmantotā diferenciācijas protokola. Sakarā ar to salīdzinoši viendabīgo diferenciācijas uzvedību un reproducējamo reakciju uz induktīviem stimuliem NE-4C šūnas parasti izmanto, lai pētītu signālceļus, kas iesaistīti neironu specializācijā, sinaptiskajā attīstībā, neirotoksicitātē, oksidatīvā stresa reakcijās un neiroprotektīvajos mehānismos. Šo modeli ir izmantojuši arī pētījumos par neirodeģeneratīvo slimību mehānismiem, attīstības neirobioloģiju un tādu savienojumu skrīningu, kas ietekmē neironu diferenciāciju vai izdzīvošanu.

Organism

Pele

Tissue

Smadzenes, neuroektodermālais

Raksturojums

Breed/Subspecies

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

Age

Embrijs

Morphology

Neuroepiteliāls

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

NE-4C (Cytion kataloga numurs 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_B063

NE-4C šūnas | 305182

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

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

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
--------------------	--

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

Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
---------------------	--

Seeding density	1 līdz 3×10^4 šūnas/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

NE-4C šūnas | 305182

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

NE-4C šūnas | 305182

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.