

NE-4C Cellen | 305182

Algemene informatie

Description

NE-4C-cellen zijn een neuro-ectodermale stamcellijn van de muis, afkomstig uit de cerebrale vesikels van embryonaal muizenhersenweefsel. De cellijn staat algemeen bekend om haar vermogen om onder welbepaalde experimentele omstandigheden neuronale differentiatie te ondergaan, waardoor ze een waardevol in-vitromodel vormt voor onderzoek naar neurogenese, neurale ontwikkeling en neuronale lijnbepaling. NE-4C-cellen vertonen kenmerken van neurale voorlopercellen en kunnen door behandeling met middelen zoals retinoïnezuur worden gestimuleerd om te differentiëren tot neuronachtige cellen, wat leidt tot morfologische en moleculaire veranderingen die gepaard gaan met neuronale rijping.

Tijdens de differentiatie ontwikkelen NE-4C-cellen langgerekte, neurietachtige uitlopers en brengen ze neuronale markers tot expressie, waaronder β III-tubuline, MAP2 en neurofilamenteiwitten, afhankelijk van het gebruikte differentiatieprotocol. Vanwege hun relatief homogene differentiatiegedrag en reproduceerbare reactie op inductieve stimuli worden NE-4C-cellen vaak gebruikt voor onderzoek naar signaalroutes die betrokken zijn bij neurale specificatie, synaptische ontwikkeling, neurotoxiciteit, reacties op oxidatieve stress en neuroprotectieve mechanismen. Het model is ook toegepast in studies naar de mechanismen van neurodegeneratieve aandoeningen, ontwikkelingsneurobiologie en het screenen van verbindingen die de neuronale differentiatie of overleving beïnvloeden.

Organism

Muis

Tissue

Hersenen, Neuroectodermaal

Kenmerken

Breed/Subspecies

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

Age

Embryo

Morphology

Neuroepitheel

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

NE-4C (Cytion-catalogusnummer 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

NE-4C Cellen | 305182

CellosaurusAccession CVCL_B063

Biomoleculaire gegevens

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

Omgaan met

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** 1:4 tot 1:10**Seeding density** 1 tot 3×10^4 cellen/cm²**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

NE-4C Cellen | 305182

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150°C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37°C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78°C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196°C . Opslag bij -80°C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

NE-4C Cellen | 305182

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.