

NE-4C-celler | 305182

Generell informasjon

Description

NE-4C-celler er en murin nevroektodermal stamcellelinje som stammer fra hjerneblærene i embryonalt musehjernevev. Cellelinjen er allment anerkjent for sin evne til å gjennomgå nevronaldifferensiering under definerte eksperimentelle forhold, noe som gjør den til en verdifull in vitro-modell for studier av nevrogenese, neural utvikling og nevrontalt linjevalg. NE-4C-celler viser egenskaper som er typiske for nevrale stamceller og kan induseres til å differensiere seg til nevrontlignende celler ved behandling med midler som retinsyre, noe som resulterer i morfologiske og molekylære endringer forbundet med nevrontmodning.

Under differensieringen utvikler NE-4C-celler utstrakte nevrittlignende utvekster og uttrykker nevrontale markører, inkludert β III-tubulin, MAP2 og nevrofilamentproteiner, avhengig av hvilket differensieringsprotokoll som benyttes. På grunn av deres relativt homogene differensieringsatferd og reproducerbare respons på induktive stimuli, brukes NE-4C-celler ofte til å undersøke signalveier involvert i neural spesifikasjon, synaptisk utvikling, nevrotoksisitet, oksidativt stressrespons og nevrobekyttende mekanismer. Modellen har også blitt brukt i studier av mekanismer ved nevrodegenerative sykdommer, utviklingsnevrobiologi og screening av forbindelser som påvirker nevrontaldifferensiering eller overlevelse.

Organism

Mus

Tissue

Hjerne, nevroektodermal

Kjennetegn

Breed/Subspecies

C57BL/6 x 129/Sv-Trp53/-

Age

Embryo

Morphology

Nevroepitelial

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

NE-4C (Cytion-katalognummer 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_B063

NE-4C-celler | 305182

Biomolekylære data

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

Håndtering

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

Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
--------------------	---

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

Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
---------------------	---

Split ratio	1:4 til 1:10
--------------------	--------------

Seeding density	1 til 3×10^4 celler/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
----------------------	------------------------

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.
----------------------	---

NE-4C-celler | 305182

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

NE-4C-celler | 305182

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.