

Komórki NG108-15 | 305844**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa NG108-15 to dobrze scharakteryzowana hybrydowa linia komórkowa będąca połączeniem neuroblastoma i glejaka, uzyskana w wyniku fuzji mysiego klonu neuroblastoma N18TG2 z szczurzym klonem glejaka C6-BU-1. W wyniku tej fuzji powstał typ komórek, który wykazuje wyraźne cechy charakterystyczne dla neuronów, co sprawia, że NG108-15 jest szeroko stosowanym modelem w badaniach neurobiologicznych i neurofarmakologicznych. Komórki hybrydowe wykazują wysoki stopień pobudliwości elektrycznej i wyrażają enzymy neuronalne, takie jak acetylocholina, umożliwiając syntezę, magazynowanie i uwalnianie acetylochliny. Komórki te tworzą rozległe wypustki i są zdolne do generowania potencjałów czynnościowych w odpowiedzi na stymulację elektryczną lub chemiczną.

Wykazano, że komórki NG108-15 tworzą funkcjonalne synapsy chemiczne z komórkami mięśniowymi, w tym zarówno z pierwotnymi myotubami embrionalnymi myszy, jak i klonalnymi liniami myotub, takimi jak G-8. W systemach współhodowli komórki NG108-15 mogą unerwiać myotuby, wytwarzając potencjały synaptyczne w odpowiedzi na wywołane potencjały czynnościowe. Reakcje te są zależne od acetylochliny i mogą być blokowane przez d-tubokurarynę, co potwierdza cholinergiczny charakter synaps. Co istotne, wydajność transmisji synaptycznej jest zmienna, ale pozostaje fizjologicznie znacząca, przy czym znaczna część hybrydowych potencjałów czynnościowych skutecznie wywołuje depolaryzację mięśni. Reakcje postsynaptyczne są ściśle naśladowane przez jonoforezyjne podanie acetylochliny, co dodatkowo potwierdza ich tożsamość cholinergiczną.

Komórki NG108-15 są dużymi komórkami podobnymi do neuronów, posiadającymi wypustki i morfologię przypominającą neuroblastomę. Wykazują one cechy kariotypowe zarówno myszy, jak i szczura oraz wykazują hybrydowe wzorce izozymów zgodne z ich mieszanym podłożem genetycznym. Komórki te zachowują fenotypy podobne do neuronów nawet przy większej liczbie pasażów, chociaż niektóre właściwości, takie jak aktywność acetylotransferazy cholinowej, mogą z czasem ulegać osłabieniu. Ogólnie rzecz biorąc, komórki NG108-15 są uważane za solidny model in vitro do badania różnicowania neuronów, neurotransmisji i synaptogenezy, szczególnie w kontekście sygnalizacji za pośrednictwem acetylochliny.

Organism

Mysz

Tissue

Mózg

Disease

Glejak wielopostaciowy

Synonyms

NG108-15, NG-108-15, NG 108-15, NG10815

Charakterystyka**Morphology**

Płaskie; okrągłe; o średnicy od 10 do 100 mikrometrów

Cell type

Hybryda komórek somatycznych

Growth properties

Przyleganie/zawieszenie

Komórki NG108-15 | 305844

Dane regulacyjne

Citation NG108-15 (numer katalogowy Cytion 305844)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0464

Dane biomolekularne

Mutational profile

Obsługa

Culture Medium

Pożywka: Podstawową pożywką dla tej linii komórkowej jest zmodyfikowana pożywka Dulbecco's Modified Eagle's Medium (nr katalogowy GIBCO/Invitrogen 12100-061, DMEM bez pirogronianu sodu). Aby przygotować kompletną pożywkę wzrostową, do pożywki podstawowej należy dodać następujące składniki:

- 0,1 mM hipoksantyny (stężenie końcowe)
- 400 nM aminopterynę (stężenie końcowe)
- 0,016 mM tymidyny (stężenie końcowe)
- 10% surowicy płodowej bydlęcej (stężenie końcowe)
- 1,5 g/l wodorowęglanu sodu

Dissociation Reagent Accutase

Seeding density od 1 do 3×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki NG108-15 | 305844**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki NG108-15 | 305844

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.