

Komórki NE-4C | 305182

Informacje ogólne

Description

Komórki NE-4C to mysia linia komórek macierzystych neuroektodermalnych, pochodząca z pęcherzyków mózgowych embrionalnej tkanki mózgowej myszy. Linia ta jest powszechnie znana ze swojej zdolności do różnicowania się w komórki neuronalne w określonych warunkach eksperymentalnych, co czyni ją cennym modelem in vitro do badań nad neurogenezą, rozwojem układu nerwowego oraz determinacją linii komórkowej neuronów. Komórki NE-4C wykazują cechy komórek progenitorowych układu nerwowego i można je indukować do różnicowania się w komórki podobne do neuronów poprzez traktowanie środkami takimi jak kwas retinowy, co powoduje zmiany morfologiczne i molekularne związane z dojrzewaniem neuronów.

W trakcie różnicowania komórki NE-4C wytwarzają wydłużone wypustki przypominające neuryty i wykazują ekspresję markerów neuronalnych, w tym β III-tubuliny, MAP2 oraz białek neurofilamentowych, w zależności od zastosowanego protokołu różnicowania. Ze względu na stosunkowo jednorodne zachowanie podczas różnicowania oraz powtarzalną reakcję na bodźce indukujące komórki NE-4C są powszechnie wykorzystywane do badania szlaków sygnałowych związanych ze specyfikacją neuronów, rozwojem synaps, neurotoksycznością, reakcjami na stres oksydacyjny oraz mechanizmami neuroprotekcyjnymi. Model ten znalazł również zastosowanie w badaniach nad mechanizmami chorób neurodegeneracyjnych, neurobiologią rozwojową oraz w badaniach przesiewowych związków wpływających na różnicowanie lub przeżywalność neuronów.

Organism Mysz**Tissue** Mózg, neuroektodermalny

Charakterystyka

Breed/Subspecies C57BL/6 x 129/Sv-Trp53-/-**Age** Zarodek**Morphology** Neuroepitelialny**Growth properties** Adherent

Dane regulacyjne

Citation NE-4C (numer katalogowy Cytion 305182)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090

Komórki NE-4C | 305182

CellosaurusAccession CVCL_B063

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:4 do 1:10**Seeding density** 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 NE-4C | 305182

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 zawiesinowych, 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 fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolkę 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 NE-4C | 305182

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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.