

Células NE-4C | 305182**Informações gerais****Description**

As células NE-4C são uma linha de células estaminais neuroectodérmicas murinas derivadas das vesículas cerebrais do tecido cerebral embrionário do rato. Esta linha celular é amplamente reconhecida pela sua capacidade de sofrer diferenciação neuronal em condições experimentais definidas, o que a torna um modelo in vitro valioso para estudos sobre neurogênese, desenvolvimento neural e determinação da linhagem neuronal. As células NE-4C apresentam características de células progenitoras neurais e podem ser induzidas a diferenciar-se em células semelhantes a neurónios através do tratamento com agentes como o ácido retinóico, o que resulta em alterações morfológicas e moleculares associadas à maturação neuronal.

Durante a diferenciação, as células NE-4C desenvolvem processos alongados semelhantes a neuritos e expressam marcadores neuronais, incluindo β III-tubulina, MAP2 e proteínas de neurofilamentos, dependendo do protocolo de diferenciação utilizado. Devido ao seu comportamento de diferenciação relativamente homogêneo e à resposta reprodutível a estímulos indutores, as células NE-4C são frequentemente utilizadas para investigar vias de sinalização envolvidas na especificação neural, no desenvolvimento sináptico, na neurotoxicidade, nas respostas ao stress oxidativo e nos mecanismos neuroprotetores. Este modelo também tem sido aplicado em estudos sobre os mecanismos das doenças neurodegenerativas, neurobiologia do desenvolvimento e triagem de compostos que afetam a diferenciação ou a sobrevivência neuronal.

Organism

Rato

Tissue

Cérebro, neuroectodérmico

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

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

Age

Embrião

Morphology

Neuroepitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

NE-4C (número de catálogo da Cytion 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

Células NE-4C | 305182

CellosaurusAccession CVCL_B063

Dados biomoleculares

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

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO ₃ , com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
----------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
-------------	--

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

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
--------------	--

Split ratio	1:4 a 1:10
-------------	------------

Seeding density	1 a 3×10^4 células/cm ²
-----------------	---

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
---------------	------------------------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
---------------	---

Células NE-4C | 305182

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Células NE-4C | 305182

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.