

Celule NE-4C | 305182

Informații generale

Description

Celulele NE-4C reprezintă o linie celulară murină de celule stem neuroectodermale, derivată din veziculele cerebrale ale țesutului cerebral embrionar de șoarece. Linia celulară este recunoscută pe scară largă pentru capacitatea sa de a se diferenția în celule neuronale în condiții experimentale definite, ceea ce o face un model in vitro valoros pentru studiile privind neurogeneza, dezvoltarea neurală și determinarea liniei celulare neuronale. Celulele NE-4C prezintă caracteristici ale celulelor progenitoare neuronale și pot fi induse să se diferențieze în celule de tip neuronal prin tratament cu agenți precum acidul retinoic, ceea ce duce la modificări morfologice și moleculare asociate cu maturizarea neuronală.

În timpul diferențierii, celulele NE-4C dezvoltă procese extinse de tip neurit și exprimă markeri neuronali, inclusiv tubulina β III, MAP2 și proteine neurofilamentare, în funcție de protocolul de diferențiere utilizat. Datorită comportamentului lor de diferențiere relativ omogen și a răspunsului reproductibil la stimulii inductivi, celulele NE-4C sunt utilizate în mod obișnuit pentru a investiga căile de semnalizare implicate în specificarea neurală, dezvoltarea sinaptică, neurotoxicitatea, răspunsurile la stresul oxidativ și mecanismele neuroprotectoare. Modelul a fost aplicat, de asemenea, în studii privind mecanismele bolilor neurodegenerative, neurobiologia dezvoltării și screeningul compușilor care afectează diferențierea sau supraviețuirea neuronală.

Organism

Șoarece

Tissue

Creier, neuroectodermal

Caracteristici

Breed/Subspecies

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

Age

Embrion

Morphology

Neuroepitelial

Growth properties

Aderent

Date de reglementare

Citation

NE-4C (număr de catalog Cytion 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

Celule NE-4C | 305182

CellosaurusAccession CVCL_B063

Date biomoleculare

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

Manipulare

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
----------------	---

Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA
-------------	---

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

Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
--------------	--

Seeding density	1 până la 3×10^4 cel ^{ule} /cm ²
-----------------	---

Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
---------------	---------------------------------

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
---------------	---

Celule NE-4C | 305182

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Celule NE-4C | 305182

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.