

Bunky NE-4C | 305182**Všeobecné informácie****Description**

Bunky NE-4C sú myšia línia neuroektodermálnych kmeňových buniek odvodená z mozgových vezikulov embryonálnej tkaniny myšieho mozgu. Táto bunková línia je všeobecne uznávaná pre svoju schopnosť prechádzať neurónovou diferenciáciou za definovaných experimentálnych podmienok, čo z nej robí cenný in vitro model pre štúdium neurogénie, neurálneho vývoja a určovania neurónovej línie. Bunky NE-4C vykazujú charakteristiky neurálnych progenitorových buniek a ich diferenciáciu na neurónové bunky je možné indukovať pôsobením látok, ako je kyselina retinová, čo vedie k morfológickým a molekulárnym zmenám spojeným s neurónovým dozrievaním.

Počas diferenciácie vyvíjajú bunky NE-4C predĺžené výbežky podobné neuritom a exprimujú neurónové markery, vrátane β III-tubulínu, MAP2 a neurofilamentových proteínov, v závislosti od použitého diferenciačného protokolu. Vďaka svojmu relatívne homogénemu diferenciačnému správaniu a reprodukovateľnej reakcii na indukčné podnety sa bunky NE-4C bežne používajú na skúmanie signálnych dráh zapojených do neurálnej špecifikácie, vývoja synáps, neurotoxicity, reakcií na oxidačný stres a neuroprotektívnych mechanizmov. Tento model sa tiež uplatňuje v štúdiách mechanizmov neurodegeneratívnych ochorení, vývojovej neurobiológie a pri skríningu zlúčenín ovplyvňujúcich diferenciáciu alebo prežitie neurónov.

Organism Myš**Tissue** Mozog, neuroektodermálny**Charakteristika****Breed/Subspecies** C57BL/6 $\times$ 129/Sv-Trp53/-**Age** Embryo**Morphology** Neuroepiteliálny**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** NE-4C (katalógové číslo Cytion 305182)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_B063

Bunky NE-4C | 305182**Biomolekulárne údaje**

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

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
--------------------	------------------------------------

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

Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
---------------------	---

Seeding density	1 až 3 x 10 ⁴ buniek/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
----------------------	----------------------

Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.
----------------------	--

Bunky NE-4C | 305182

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Bunky NE-4C | 305182

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.