

NE-4C Hücreleri | 305182

Genel bilgi

Description

NE-4C hücreleri, embriyonik fare beyin dokusunun serebral veziküllerinden elde edilen bir fare nöroektodermal kök hücre hattıdır. Bu hücre hattı, tanımlanmış deney koşulları altında nöronal farklılaşmaya uğrama kabiliyetiyle yaygın olarak tanınmaktadır; bu özelliği, onu nörojenez, sinirsel gelişim ve nöronal soy belirlenmesi çalışmalarında değerli bir in vitro model haline getirmektedir. NE-4C hücreleri, nöral progenitör hücrelerin özelliklerini sergiler ve retinoik asit gibi ajanlarla tedavi edilerek nöron benzeri hücrelere farklılaşmaya yönlendirilebilir; bu da nöronal olgunlaşma ile ilişkili morfolojik ve moleküler değişikliklere yol açar.

Farklaşma sırasında NE-4C hücreleri, kullanılan farklılaşma protokolüne bağlı olarak uzamış nörit benzeri uzantılar geliştirir ve β III-tubulin, MAP2 ve nörofilament proteinleri dahil olmak üzere nöronal belirteçleri eksprese eder. Nispeten homojen farklılaşma davranışları ve indüktif uyaranlara karşı tekrarlanabilir tepkileri nedeniyle, NE-4C hücreleri genellikle nöral spesifikasyon, sinaptik gelişim, nörotoksisite, oksidatif stres tepkileri ve nöroprotektif mekanizmalarda rol oynayan sinyal yollarını araştırmak için kullanılır. Bu model ayrıca nörodejeneratif hastalık mekanizmaları, gelişimsel nörobiyoloji ve nöronal farklılaşmayı veya hayatta kalmayı etkileyen bileşiklerin taranması ile ilgili çalışmalarda da uygulanmıştır.

Organism

Fare

Tissue

Beyin, Nöroektodermal

Özellikler

Breed/Subspecies

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

Age

Embriyo

Morphology

Nöroepitelyal

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

NE-4C (Cytion katalog numarası 305182)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_B063

NE-4C Hücreleri | 305182

Biyomoleküler Veriler

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

Elleçleme

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion makale numarası 820100a)
----------------	--

Supplements	Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin
-------------	--

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

Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
--------------	--

Seeding density	1 ila 3×10^4 hücre/cm ²
-----------------	---

Fluid renewal	haftada 2 ila 3 kez
---------------	---------------------

Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.
---------------	--

NE-4C Hücreleri | 305182

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

NE-4C Hücreleri | 305182

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.