Product sheet

Клетки DI TNC1 | 305343

Обща информация

Description	Клетъчната линия DI TNC1 е имортализиран модел на астроцити, получен от първични астроцити тип 1, взети от диенцефалона на неонатален плъх. Клетките са имортализирани с помощта на полиомавирусния среден Т-антиген, което им дава възможност да се размножават неограничено, като същевременно запазват някои характеристики на първичните астроцити. Клетките DI TNC1 се използват широко в изследванията на невровъзпалението и невропротекцията, особено за проучване на астроцитния енергиен метаболизъм, отговора на оксидативния стрес и регулирането на възпалителните пътища. Тези клетки експресират ключови астроцитни маркери, като глиален фибриларен киселинен протеин (GFAP) и протеин S100β, и участват в метаболитните процеси, включително съхранението на гликоген и осигуряването на енергия за невроните. Една от отличителните характеристики на DI TNC1 астроцитите е участието им в изследванията на енергийния метаболизъм. Проучванията показват, че тези клетки реагират на различни невротрансмитери, като норадреналин и вазоактивен чревен пептид (VIP), като преминават през гликогенолиза и модулират нивата на цикличния АМФ (cAMP). Освен това е доказано, че клетките DI TNC1 използват глюкоза и произвеждат лактат, които са от решаващо значение за поддържане на невронните функции. Въпреки това някои реакции, наблюдавани при първичните астроцити, като стимулираната от глутамат гликолиза или значителната дългосрочна ресинтеза на гликоген, не са толкова силни в DI TNC1 клетките. Това подчертава полезността на DI TNC1 клетките при изследването на специфични аспекти на физиологията на астроцитите, които са от значение за енергийната динамика в централната нервна система. Друга значима област на изследване, използваща DI TNC1 клетки, включва изследване на оксидативния стрес и възпалителните сигнални пътища. Например клетките DI TNC1 са използвани за анализ на регулирането на пътищата на ядрения фактор kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) и на ядрения фактор еритроиден 2-свързан фактор 2 (Nrf2). Експериментите с растителни полифеноли като кверцетин и екстракти от растения като ашваганда показаха, че тези съединения могат да модулират пътищата NF-κB и Nrf2/ARE (антиоксидантен елемент на отговор) в DI TNC1 астроцити. По-конкретно, установено е, че кверцетинът инхибира активността на NF-κB, предизвикана от липополизахарид (LPS), и повишава антиоксидантната защита, медиирана от Nrf2, което показва потенциала на тези клетки за скрининг на противовъзпалителни и невропротективни средства.
Organism	Плъх
Tissue	Мозък, диенцефалон
Disease	Нормален
Synonyms	DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Характеристики

Breed/Subspecies	Sprague Dawley

Product sheet

Клетки DI TNC1 | 305343

Age	1 ден
Gender	Неуточнено
Morphology	Фибробласти
Cell type	Астроцит, тип II
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	DI TNC1 (каталожен номер 305343 на Cytion)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0247
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия от астроцити на плъхове (DI TNC1) съдържа конструкт от ранния регион на SV40 под контрола на промотора на GFAP, доставен чрез плазмидна трансфекция, което позволява имортализация. Вмъкването е стабилно в първични клетки, получени от астроцити. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	Експресирани гени: алфа 2 макроглобулин, трансферин
Tumorigenic	Не, тествано при имуносупресирани мишки, но образува колонии в полутвърда среда
Viruses	Трансформатор: Simian virus 40 (SV40)

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Клетки DI TNC1 | 305343

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки DI TNC1 | 305343

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки DI TNC1 | 305343

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.