

Buňky DI TNC1 | 305343

Obecné informace

Description

Buněčná linie DI TNC1 je immortalizovaný model astrocytů odvozený z primárních astrocytů typu 1 odebraných z diencefala novorozence potkana. Buňky byly immortalizovány pomocí polyomavirového středního T-antigeny, který jim propůjčuje schopnost neomezeně se množit a zároveň zachovává některé vlastnosti primárních astrocytů. Buňky DI TNC1 jsou široce využívány ve studiích neurozánětu a neuroprotektce, zejména pro zkoumání energetického metabolismu astrocytů, reakce na oxidační stres a regulace zánětlivých drah. Tyto buňky exprimují klíčové astrocytární markery, jako je gliální fibrilární kyselý protein (GFAP) a protein S100 β , a podílejí se na metabolických procesech, včetně ukládání glykogenu a dodávání energie neuronům.

Jedním z charakteristických rysů astrocytů DI TNC1 je jejich zapojení do studií energetického metabolismu. Výzkum prokázal, že tyto buňky reagují na různé neurotransmitery, jako je noradrenalin a vazopresin (VIP), tím, že podstupují glykogenolýzu a modulují hladiny cyklického AMP (cAMP). Kromě toho bylo prokázáno, že buňky DI TNC1 využívají glukózu a produkují laktát, které jsou klíčové pro podporu neuronálních funkcí. Některé reakce pozorované u primárních astrocytů, jako je glutamát stimulovaná glykolýza nebo významná dlouhodobá resyntéza glykogenu, však nejsou u buněk DI TNC1 tak robustní. To poukazuje na užitečnost buněk DI TNC1 při studiu specifických aspektů fyziologie astrocytů, které jsou důležité pro dynamiku energie v centrálním nervovém systému.

Další významná oblast studia s využitím buněk DI TNC1 zahrnuje zkoumání oxidačního stresu a zánětlivých signálních drah. Buňky DI TNC1 byly například použity k analýze regulace dráhy nukleárního faktoru kappa-light-chain-enhancer aktivovaných B buněk (NF- κ B) a dráhy nukleárního faktoru erythroid 2-related factor 2 (Nrf2). Pokusy s rostlinnými polyfenoly, jako je kvercetin, a výtahy z rostlin, jako je ašvaganda, ukázaly, že tyto sloučeniny mohou modulovat dráhy NF- κ B a Nrf2/ARE (antioxidant response element) v astrocytech DI TNC1. Konkrétně bylo zjištěno, že kvercetin inhibuje aktivitu NF- κ B vyvolanou lipopolysacharidem (LPS) a zvyšuje antioxidantní obranu zprostředkovanou Nrf2, což ukazuje potenciál těchto buněk pro screening protizánětlivých a neuroprotektivních látek.

Organism Krysy

Tissue Mozek, diencephalon

Disease Normální

Synonyms DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Charakteristika

Breed/Subspecies Sprague Dawley

Age 1 den

Gender Nespecifikováno

Buňky DI TNC1 | 305343**Morphology** Fibroblasty**Cell type** Astrocyt, typ II**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** DI TNC1 (katalogové číslo Cytion 305343)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0247**GMO Status** GMO-S1: Tato buněčná linie potkaních astrocytů (DI TNC1) obsahuje konstrukt časné oblasti SV40 pod kontrolou promotoru GFAP, který byl dodán pomocí transfekce plazmidů, což umožňuje imortalizaci. Vložka je stabilní v primárních buňkách odvozených z astrocytů. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.**Biomolekulární data****Protein expression** Exprese genů: alfa 2 makroglobulin, transferin**Tumorigenic** Ne, testováno na imunosuprimovaných myších, ale tvořily kolonie v polotuhém médiu**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Buňky DI TNC1 | 305343

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:2 až 1:6

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky DI TNC1 | 305343

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Žádný

Freezing Procedure Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.