

DI TNC1-celler | 305343

Generel information

Description

DI TNC1-cellelinjen er en udødeliggjort astrocytmodel, der stammer fra primære type 1-astrocytter taget fra diencephalon hos en neonatal rotte. Cellerne blev udødeliggjort ved hjælp af polyomavirus middle T-antigen, hvilket giver dem evnen til at sprede sig på ubestemt tid, samtidig med at de bevarer flere af de primære astrocytters egenskaber. DI TNC1-celler bruges i vid udstrækning i undersøgelser af neuroinflammation og neurobeskyttelse, især til at udforske astrocytisk energimetabolisme, reaktion på oxidativ stress og regulering af inflammatoriske veje. Disse celler udtrykker vigtige astrocytiske markører, såsom glial fibrillary acidic protein (GFAP) og S100 β -protein, og er involveret i metaboliske processer, herunder glykogenlagring og energiforsyning til neuroner.

Et af kendetegnene ved DI TNC1-astrocytter er deres involvering i studier af energimetabolisme. Forskning har vist, at disse celler reagerer på forskellige neurotransmittere, såsom noradrenalin og vasoaktivt tarmpeptid (VIP), ved at undergå glykogenolyse og modulere niveauet af cyklisk AMP (cAMP). Derudover har DI TNC1-celler vist sig at udnytte glukose og producere laktat, som er afgørende for at understøtte neuronale funktioner. Visse reaktioner, der ses i primære astrocytter, som glutamat-stimuleret glykolyse eller betydelig langsigtet glykogenresyntese, er dog ikke så robuste i DI TNC1-celler. Dette fremhæver DI TNC1-cellers anvendelighed til at dissekere specifikke aspekter af astrocytfysiologi, der er relevante for energidynamikken i centralnervesystemet.

Et andet vigtigt undersøgelsesområde ved hjælp af DI TNC1-celler involverer undersøgelse af oxidativ stress og inflammatoriske signalveje. For eksempel er DI TNC1-celler blevet brugt til at analysere reguleringen af den nukleare faktor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) og den nukleare faktor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2). Eksperimenter med botaniske polyfenoler som quercetin og ekstrakter fra planter som Ashwagandha har vist, at disse forbindelser kan modulere NF- κ B og Nrf2/ARE (antioxidant response element) i DI TNC1 astrocytter. Specifikt har quercetin vist sig at hæmme lipopolysaccharid (LPS)-induceret NF- κ B-aktivitet og forbedre Nrf2-medieret antioxidantforsvar, hvilket illustrerer disse cellers potentiale for screening af antiinflammatoriske og neurobeskyttende midler.

Organism Rotte

Tissue Hjerne, diencephalon

Disease Normal

Synonyms DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Karakteristika

Breed/Subspecies Sprague Dawley

Age 1 dag

Gender Uspecificeret

DI TNC1-celler | 305343

Morphology Fibroblast**Cell type** Astrocyt, type II**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** DI TNC1 (Cytion katalognummer 305343)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0247**GMO Status** GMO-S1: Denne rotte-astrocytcellelinje (DI TNC1) indeholder en SV40 early-region-konstruktion under GFAP-promotorkontrol leveret via plasmidtransfektion, hvilket muliggør udødeliggørelse. Indsatsen er stabil i primære astrocyt-afledte celler. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** Udtrykte gener: alfa-2-makroglobulin, transferrin**Tumorigenic** Nej, testet i immunsupprimerede mus, men dannede kolonier i halvfast medium**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

DI TNC1-celler | 305343

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspend forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2} befugtet atmosfære.

DI TNC1-celler | 305343

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.