

## DI TNC1 rakud | 305343

## Üldine teave

## Description

DI TNC1 rakuliin on immortaliseeritud astrotsüütide mudel, mis on saadud vastsündinud roti vahepealsest ajukesest võetud primaarsetest 1. tüüpi astrotsüütidest. Rakud immortaliseeriti polüomaviiruse keskmise T-antigeeni abil, mis annab neile võime piiramatult paljuneda, säilitades samal ajal mitmeid esmaste astrotsüütide omadusi. DI TNC1 rakke kasutatakse laialdaselt neuroinflammatsiooni ja neuroproteksiooni uuringutes, eelkõige astrotsüütide energia metabolismi, oksüdatiivsele stressile reageerimise ja põletikuradade reguleerimise uurimiseks. Need rakud ekspresseerivad põhilisi astrotsüütilisi markereid, nagu gliafibrillaarne happeline valk (GFAP) ja S100β valk, ning osalevad ainevahetusprotsessides, sealhulgas glükogeeni ladustamises ja neuronite energiaga varustamises.

Üks DI TNC1 astrotsüütide iseloomulikke tunnuseid on nende osalemine energia metabolismi uuringutes. Uuringud on näidanud, et need rakud reageerivad erinevatele neurotransmitteritele, nagu noradrenaliin ja vasoaktiivne soolepeptiid (VIP), glükogenolüüsi ja tsüklilise AMP (cAMP) taseme moduleerimisega. Lisaks on näidatud, et DI TNC1 rakud kasutavad glükoosi ja toodavad laktaati, mis on oluline neuronaalsete funktsioonide toetamiseks. Siiski ei ole teatud reaktsioonid, mida on täheldatud primaarsetes astrotsüütides, nagu glutamaadi stimuleeritud glükolüüs või märkimisväärne pikaajaline glükogeeni resünteesis, DI TNC1 rakkudes nii jõulised. See rõhutab DI TNC1 rakkude kasulikkust astrotsüütide füsioloogia spetsiifiliste aspektide analüüsimisel, mis on olulised kesknärvisüsteemi energiadünaamika jaoks.

Teine oluline uurimisvaldkond, milles kasutatakse DI TNC1 rakke, hõlmab oksüdatiivse stressi ja põletikuliste signaaliradade uurimist. Näiteks on DI TNC1 rakke kasutatud aktiveeritud B-rakkude tuumafaktori kappa-valgusahela võimendaja (NF-κB) ja tuumafaktor erütroidi 2 seotud faktori 2 (Nrf2) regulatsiooni analüüsimiseks. Katsed taimsete polüfenoolidega, nagu kvartsetiin ja taimeekstraktid, näiteks Ashwagandha, on näidanud, et need ühendid võivad moduleerida NF-κB ja Nrf2/ARE (antioksidantne reageerimiselement) radu DI TNC1 astrotsüütides. Konkreetselt on leitud, et kvartsetiin pärsib lipopolüsahhariidi (LPS) poolt indutseeritud NF-κB aktiivsust ja suurendab Nrf2-vahendatud antioksidantide kaitset, mis näitab nende rakkude potentsiaali põletikuvastaste ja neuroprotektiivsete ainete skriininguks.

**Organism** Rott

**Tissue** Aju, vahepealne aju

**Disease** Tavaline

**Synonyms** DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

## Omadused

**Breed/Subspecies** Sprague Dawley

**Age** 1 päev

**Gender** Täpsustamata

## DI TNC1 rakud | 305343

**Morphology** Fibroblastide

**Cell type** Astrotsüüt, tüüp II

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** DI TNC1 (Cytioni katalooginumber 305343)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_0247

**GMO Status** GMO-S1: See roti astrotsüütide rakuliin (DI TNC1) sisaldab SV40 varajase piirkonna konstruktsiooni GFAP-promootori kontrolli all, mis on tarnitud plasmiidtransfektsiooni teel, mis võimaldab immortaliseerimist. Insert on primaarsetes astrotsüütidest saadud rakkudes stabiilne. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

## Biomolekulaarsed andmed

**Protein expression** Ekspresseeritud geenid: alfa-2-makroglobuliin, transferrin

**Tumorigenic** Ei, testitud immunosupresseeritud hiirtel, kuid moodustasid kolooniaid poolkindlal söötmel

**Viruses** Transformant: simian virus 40 (SV40)

## Töötlemine

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

**Dissociation Reagent** Accutase

## DI TNC1 rakud | 305343

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle  $37^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspenseerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation Atmosphere**  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating** Puudub

## DI TNC1 rakud | 305343

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.