Product sheet

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 neuroprotektsiooni 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 resüntees, 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 kvertsetiin ja taimeekstraktid, näiteks Ashwagandha, on näidanud, et need ühendid võivad moduleerida NF-κB ja Nrf2/ARE (antioksüdantne reageerimiselement) radu DI TNC1 astrotsüütides. Konkreetselt on leitud, et kvertsetiin pärsib lipopolüsahhariidi (LPS) poolt indutseeritud NF-κB aktiivsust ja suurendab Nrf2-vahendatud antioksüdantide 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 kataloginumber 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, transferriin
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 NaHCO3, 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 rakkudelt 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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon 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. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.