Product sheet

CTX TNA2-solut | 305333

Yleisiä tietoja

Description	CTX TNA2 on rotan astrosyyttisolulinja, joka on muodostettu kortikaalisten astrosyyttien primaariviljelmistä. Sitä käytetään usein keskushermoston (CNS) toimintojen tutkimiseen, erityisesti gliabiologian, neurotoksisuuden ja hermosuojan osalta. Astrosyytit ovat kriittisessä asemassa CNS:n homeostaasin ylläpitämisessä, ne tarjoavat rakenteellista ja metabolista tukea neuroneille ja välittävät vasteita vammoihin ja oksidatiiviseen stressiin. CTX TNA2-soluja on käytetty useissa tutkimuksissa neurotoksisuuden mallintamiseen, erityisesti glutamaatin kaltaisten aineiden aiheuttaman eksitotoksisuuden mallintamiseen. Esimerkiksi altistuminen glutamaatille CTX TNA2 -soluissa käynnistää apoptoosin ja autofagian mekanismeilla, joihin osallistuvat reaktiiviset happilajit (ROS) ja glykogeenisyntaasikinaasi-3β (GSK-3β) -reitti. Nämä reitit ovat keskeisiä solujen vasteessa oksidatiiviseen stressiin ja mitokondrioiden toimintahäiriöihin erityisesti traumaattisen aivovamman tai muiden neurodegeneratiivisten tilojen jälkeen. Lisäksi neuroprotektiivisten aineiden, kuten resveratrolin ja kannabidiolin (CBD), on osoitettu vähentävän ROS:n muodostumista ja estävän glutamaatin aiheuttamaa autofagiaa ja apoptoosia näissä astrosyyteissä. CTX TNA2 -solulinja on osoittautunut arvokkaaksi in vitro -malliksi astrosyyttien perustoiminnan lisäksi myös antioksidanttisten ja neuroprotektiivisten yhdisteiden terapeuttisen potentiaalin tutkimiseen keskushermoston vammojen ja sairauksien yhteydessä.
Organism	Rotta
Tissue	Aivot, otsalohko

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	1 päivä
Morphology	Fibroblastit
Cell type	Astrosyytit
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	CTX TNA2 (Cytionin tuotenumero 305333)
Biosafety level	2

CTX TNA2-solut | 305333

NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_3670

Biomolekyylitiedot

Viruses	Transformantti: Simian virus 40 (SV40)

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

CTX TNA2-solut | 305333

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.