

## DI TNC1-solut | 305343

## Yleisiä tietoja

## Description

DI TNC1 -solulinja on kuolematon astrosyyttimalli, joka on johdettu vastasyntyneen rotan välikarsinasta otetuista primaarisista tyyppin 1 astrosyyteistä. Solut immortalisoitiin käyttämällä polyomaviruksen keskimmäistä T-antigeenia, mikä antaa niille kyvyn lisääntyä loputtomiin säilyttäen samalla useita primaaristen astrosyyttien ominaisuuksia. DI TNC1 -soluja käytetään laajalti neuroinflammatio- ja neuroprotektiotutkimuksissa, erityisesti astrosyyttien energia-aineenvaihdunnan, oksidatiivisen stressin vasteen ja tulehdusreittien säätelyn tutkimiseen. Nämä solut ilmentävät keskeisiä astrosyyttisiä merkkiaineita, kuten gliofibrillaarista happoproteiinia (GFAP) ja S100 $\beta$ -proteiinia, ja ne osallistuvat aineenvaihduntaprosesseihin, kuten glykokeenin varastointiin ja energian toimittamiseen neuroneille.

Yksi DI TNC1 -astrosyyttien ominaispiirteistä on niiden osallistuminen energia-aineenvaihdunnan tutkimuksiin. Tutkimukset ovat osoittaneet, että nämä solut reagoivat erilaisiin välittäjäaineisiin, kuten noradrenaliiniin ja vasoaktiiviseen suolistopeptidiin (VIP), glykogenolyysillä ja moduloimalla syklisen AMP:n (cAMP) tasoja. Lisäksi DI TNC1 -solujen on osoitettu hyödyntävän glukoosia ja tuottavan laktaattia, jotka ovat ratkaisevia hermoston toimintojen tukemisen kannalta. Tiettyt primaarisissa astrosyyteissä havaitut vasteet, kuten glutamaatin stimuloima glykolyysi tai merkittävä pitkäaikainen glykokeenin resynteesi, eivät kuitenkaan ole yhtä voimakkaita DI TNC1 -soluissa. Tämä korostaa DI TNC1 -solujen hyödyllisyyttä astrosyyttien fysiologian erityispiirteiden tutkimisessa, joilla on merkitystä keskushermoston energiadynamiikan kannalta.

Toinen merkittävä DI TNC1 -soluja käyttävä tutkimusalue liittyy hapetusstressin ja tulehdussignaalien välityspolkujen tutkimiseen. DI TNC1 -soluja on esimerkiksi käytetty aktivoitujen B-solujen ydintekijän kappa-valoketjun vahvistajan (NF- $\kappa$ B) ja ydintekijän erytroidi 2:een liittyvän tekijän 2 (Nrf2) säätelyn analysointiin. Kokeet kasviperäisillä polyfenoleilla, kuten kversetiinillä, ja Ashwagandhan kaltaisista kasveista saaduilla uutteilla ovat osoittaneet, että nämä yhdisteet voivat moduloida NF- $\kappa$ B- ja Nrf2/ARE-reittejä (antioksidanttinen vaste-elementti) DI TNC1 -astrosyyteissä. Erityisesti kversetiinin on havaittu estävän lipopolysakkaridin (LPS) aiheuttamaa NF- $\kappa$ B-aktiivisuutta ja tehostavan Nrf2-välitteistä antioksidanttista puolustusta, mikä osoittaa näiden solujen potentiaalia tulehdusta ja hermoja suojaavien aineiden seulonnassa.

## Organism

Rotta

## Tissue

Aivot, välikarsina

## Disease

Normaali

## Synonyms

DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

## Ominaisuudet

## Breed/Subspecies

Sprague Dawley

## Age

1 päivä

## Gender

Määrittelemätön

## DI TNC1-solut | 305343

**Morphology** Fibroblastit

**Cell type** Astrosytytti, tyyppi II

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** DI TNC1 (Cytionin luettelonumero 305343)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_0247

**GMO Status** GMO-S1: Tämä rotan astrozyttisolulinja (DI TNC1) sisältää SV40-alkuisen alueen konstruktia GFAP-promoottorin valvonnassa, joka on toimitettu plasmiditransfektion avulla, mikä mahdollistaa kuolemattomuuden. Insertti on stabiili primaarisissa astrozyttisoluuissa. Tämä luokitus koskee vain Saksa, ja se voi poiketa muualla.

## Biomolekyyli tiedot

**Protein expression** Ilmaistut geenit: alfa-2-makroglobuliini, transferrini

**Tumorigenic** Ei, testattu immunosuppressoituneilla hiirillä, mutta muodosti pesäkkeitä puolikiinteässä väliaineessa

**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 NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

**Dissociation Reagent** Accutase

## DI TNC1-solut | 305343

**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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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.

## DI TNC1-solut | 305343

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating** Ei mitään

**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 tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

**Sterility** Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.