

Cellule DI TNC1 | 305343

Informazioni generali

Description

La linea cellulare DI TNC1 è un modello immortale di astrocita derivato da astrociti primari di tipo 1 prelevati dal diencefalo di un ratto neonatale. Le cellule sono state immortalizzate utilizzando l'antigene T medio del poliomavirus, che conferisce loro la capacità di proliferare indefinitamente mantenendo diverse caratteristiche degli astrociti primari. Le cellule DI TNC1 sono ampiamente utilizzate negli studi di neuroinfiammazione e neuroprotezione, in particolare per esplorare il metabolismo energetico astrocitario, la risposta allo stress ossidativo e la regolazione delle vie infiammatorie. Queste cellule esprimono marcatori astrocitari chiave, come la proteina gliale fibrillare acida (GFAP) e la proteina S100 β , e sono coinvolte nei processi metabolici, tra cui l'immagazzinamento del glicogeno e la fornitura di energia ai neuroni.

Una delle caratteristiche distintive degli astrociti DI TNC1 è il loro coinvolgimento negli studi sul metabolismo energetico. La ricerca ha dimostrato che queste cellule rispondono a vari neurotrasmettitori, come la noradrenalina e il peptide intestinale vasoattivo (VIP), sottoponendosi a glicogenolisi e modulando i livelli di AMP ciclico (cAMP). Inoltre, è stato dimostrato che le cellule DI TNC1 utilizzano il glucosio e producono lattato, elementi fondamentali per sostenere le funzioni neuronali. Tuttavia, alcune risposte osservate negli astrociti primari, come la glicolisi stimolata dal glutammato o la significativa risintesi di glicogeno a lungo termine, non sono altrettanto robuste nelle cellule DI TNC1. Ciò evidenzia l'utilità delle cellule DI TNC1 nel dissezionare aspetti specifici della fisiologia degli astrociti che sono rilevanti per le dinamiche energetiche nel sistema nervoso centrale.

Un'altra importante area di studio che utilizza le cellule DI TNC1 riguarda l'indagine dello stress ossidativo e delle vie di segnalazione infiammatoria. Ad esempio, le cellule DI TNC1 sono state utilizzate per analizzare la regolazione del fattore nucleare kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) e del fattore nucleare eritroide 2-correlato (Nrf2). Esperimenti con polifenoli botanici come la quercetina ed estratti di piante come l'Ashwagandha hanno dimostrato che questi composti possono modulare le vie NF- κ B e Nrf2/ARE (elemento di risposta antiossidante) negli astrociti DI TNC1. In particolare, la quercetina è risultata in grado di inibire l'attività NF- κ B indotta dal lipopolisaccaride (LPS) e di potenziare le difese antiossidanti mediate da Nrf2, illustrando il potenziale di queste cellule per lo screening di agenti antinfiammatori e neuroprotettivi.

Organism	Ratto
Tissue	Cervello, diencefalo
Disease	Normale
Synonyms	DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Caratteristiche

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	1 giorno
Gender	Non specificato

Cellule DI TNC1 | 305343

Morphology Fibroblasti

Cell type Astrociti, tipo II

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation DI TNC1 (numero di catalogo Cytion 305343)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0247

GMO Status GMO-S1: questa linea cellulare di astrociti di ratto (DI TNC1) contiene un costrutto della regione precoce di SV40 sotto il controllo del promotore GFAP, fornito tramite trasfezione plasmidica, che consente l'immortalizzazione. L'inserito è stabile in cellule primarie derivate da astrociti. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.

Dati biomolecolari

Protein expression Geni espressi: alfa 2 macroglobulina, transferrina

Tumorigenic No, testato in topi immunosoppressi, ma ha formato colonie in un terreno semisolido

Viruses Trasformante: Simian virus 40 (SV40)

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Cellule DI TNC1 | 305343

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:6

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Cellule DI TNC1 | 305343

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating Nessuno

Freezing Procedure Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.