Product sheet

DI TNC1 ląstelės | 305343

Bendra informacija

Description	DI TNC1 ląstelių linija - tai imortalizuotas astrocitų modelis, gautas iš pirminių 1 tipo astrocitų, paimtų iš naujagimių žiurkių diencefalono. Ląstelės buvo imortalizuotos naudojant polomaviruso vidurinį T-antigeną, todėl jos gali daugintis neribotą laiką, išlaikydamos kai kurias pirminių astrocitų savybes. DI TNC1 ląstelės plačiai naudojamos neuroužd egimo ir neuroprotekcijos tyrimuose, ypač tiriant astrocitų energijos apykaitą, atsaką į oksidacinį stresą ir uždegiminių procesų reguliavimą. Šios ląstelės išreiškia pagrindinius astrocitų žymenis, tokius kaip glialinis fibrilinis rūgštinis baltymas (GFAP) ir baltymas S100β, ir dalyvauja medžiagų apykaitos procesuose, įskaitant glikogeno kaupimą ir neuronų aprūpinimą energija. Vienas iš DI TNC1 astrocitų skiriamųjų bruožų yra jų dalyvavimas energijos apykaitos tyrimuose. Tyrimai parodė, kad šios ląstelės reaguoja į įvairius neuromediatorius, tokius kaip noradrenalinas ir vazoaktyvusis žarnyno peptidas (VIP), atlikdamos glikogenolizę ir moduliuodamos ciklinio AMP (cAMP) kiekį. Be to, įrodyta, kad DI TNC1 ląstelės naudoja gliukozę ir gamina laktatą, kurie yra labai svarbūs neuronų funkcijoms palaikyti. Tačiau tam tikros reakcijos, pastebėtos pirminiuose astrocituose, pavyzdžiui, glutamatu stimuliuojama glikolizė ar reikšminga ilgalaikė glikogeno resintezė, DI TNC1 ląstelėse nėra tokios stiprios. Tai rodo DI TNC1 ląstelių naudingumą, siekiant ištirti specifinius astrocitų fiziologijos aspektus, susijusius su energijos dinamika centrinėje nervų sistemoje. Kita svarbi tyrimų sritis, kurioje naudojamos DI TNC1 ląstelės, yra oksidacinio streso ir uždegiminių signalų kelių tyrimas. Pavyzdžiui, DI TNC1 ląstelės buvo naudojamos analizuojant branduolinio faktoriaus kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) ir branduolinio faktoriaus eritroidų 2 giminingo faktoriaus 2 (Nrf2) kelių reguliavimą. Eksperimentai su botaniniais polifenoliais, tokiais kaip kvercetinas, ir tokių augalų, kaip ašvaganda, ekstraktais parodė, kad šie junginiai gali moduliuoti NF-κB ir Nrf2/ARE (antioksidacinio atsako elemento) kelius DI TNC1 astrocituose. Konkrečiai nustatyta, kad kvercetinas slopina lipopolisacharido (LPS) sukeltą NF-κB aktyvumą ir stiprina Nrf2 tarpininkaujamą antioksidacinę apsaugą, o tai rodo šių ląstelių potencialą priešuždegiminių ir neuroprotekcinių medžiagų atrankai.
Organism	Žiurkės
Tissue	Smegenys, diencefalonas
Disease	Normalus
Synonyms	DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Charakteristikos

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	1 diena
Gender	Nenustatyta

DI TNC1 ląstelės | 305343

Morphology	Fibroblastai
Cell type	II tipo astrocitas
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	DI TNC1 (Cytion katalogo numeris 305343)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0247
GMO Status	GMO-S1: šioje žiurkių astrocitų ląstelių linijoje (DI TNC1) yra SV40 ankstyvojo regiono konstruktas, kontroliuojamas GFAP promotoriaus, perduotas per plazmidžių transfekciją, todėl galima imortalizacija. Įterptas elementas yra stabilus pirminėse iš astrocitų gautose ląstelėse. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	Išreikšti genai: alfa 2 makroglobulinas, transferinas
Tumorigenic	Ne, tirta su imunosupresinėmis pelėmis, tačiau pusiau kietoje terpėje sudarė kolonijas
Viruses	Transformantas: Simiano virusas 40 (SV40)

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

DI TNC1 ląstelės | 305343

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

DI TNC1 ląstelės | 305343

Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.