**Product sheet**

# DI TNC1 šūnas | 305343

## Vispārīga informācija

| | |
|---|---|
| **Description** | DI TNC1 šūnu līnija ir imortizēts astrocītu modelis, kas iegūts no primārajiem 1. tipa astrocītiem, kuri ņemti no jaundzimušo žurku galvas smadzeņu dziedzera. Šūnas tika imortalizētas, izmantojot poliomavīrusa vidējo T-antigēnu, kas nodrošina tām spēju bezgalīgi vairoties, vienlaikus saglabājot vairākas primāro astrocītu īpašības. DI TNC1 šūnas tiek plaši izmantotas neiroiekaisuma un neiroprotekcijas pētījumos, jo īpaši, lai izpētītu astrocītu enerģijas metabolismu, reakciju uz oksidatīvo stresu un iekaisuma ceļu regulāciju. Šīs šūnas ekspresē galvenos astrocītu marķierus, piemēram, gliālo fibrilāro skābo proteīnu (GFAP) un S100β proteīnu, un ir iesaistītas metabolisma procesos, tostarp glikogēna uzglabāšanā un enerģijas nodrošināšanā neironiem.<br><br>Viena no DI TNC1 astrocītu raksturīgajām iezīmēm ir to iesaistīšanās enerģijas metabolisma pētījumos. Pētījumi liecina, ka šīs šūnas reaģē uz dažādiem neiromediatoriem, piemēram, noradrenalīnu un vazoaktīvo zarnu peptīdu (VIP), veicot glikogenolīzi un modulējot cikliskā AMP (cAMP) līmeni. Turklāt ir pierādīts, ka DI TNC1 šūnas izmanto glikozi un ražo laktātu, kas ir ļoti svarīgi neironu funkciju nodrošināšanai. Tomēr dažas reakcijas, kas novērotas primārajos astrocītos, piemēram, glutamāta stimulēta glikolīze vai nozīmīga ilgtermiņa glikogēna resintēze, DI TNC1 šūnās nav tik spēcīgas. Tas norāda uz DI TNC1 šūnu lietderību, pētot specifiskus astrocītu fizioloģijas aspektus, kas ir svarīgi enerģijas dinamikai centrālajā nervu sistēmā.<br><br>Vēl viena nozīmīga pētījumu joma, izmantojot DI TNC1 šūnas, ir oksidatīvā stresa un iekaisuma signālu ceļu izpēte. Piemēram, DI TNC1 šūnas ir izmantotas, lai analizētu kodola faktora kappa-gaismas ķēdes kodola aktivēto B šūnu pastiprinātāja (NF-κB) un kodola faktora eritroīda 2 saistītā faktora 2 (Nrf2) ceļu regulāciju. Eksperimenti ar augu polifenoliem, piemēram, kvercetīnu un ekstraktiem no tādiem augiem kā ašvaganda, ir parādījuši, ka šie savienojumi var modulēt NF-κB un Nrf2/ARE (antioksidatīvās atbildes elements) ceļus DI TNC1 astrocītos. Konkrēti, ir konstatēts, ka kvercetīns inhibē lipopolisaharīda (LPS) izraisīto NF-κB aktivitāti un pastiprina Nrf2 mediēto antioksidatīvo aizsardzību, kas liecina par šo šūnu potenciālu pretiekaisuma un neiroprotektīvo līdzekļu pārbaudei. |
| **Organism** | Žurkas |
| **Tissue** | Smadzenes, diencefalons |
| **Disease** | Parasts |
| **Synonyms** | DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1 |

## Raksturojums

| | |
|---|---|
| **Breed/Subspecies** | Sprague Dawley |
| **Age** | 1 diena |
| **Gender** | Nav norādīts |
| **Morphology** | Fibroblasti |

**Product sheet**

# DI TNC1 šūnas | 305343

| | |
|---|---|
| **Cell type** | Astrocīts, II tips |
| **Growth properties** | Adherent |

## Normatīvie dati

| | |
|---|---|
| **Citation** | DI TNC1 (Cytion kataloga numurs 305343) |
| **Biosafety level** | 2 |
| **NCBI_TaxID** | 10116 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_0247 |
| **GMO Status** | GMO-S1: Šī žurku astrocītu šūnu līnija (DI TNC1) satur SV40 agrīnā reģiona SV40 konstrukciju, kas kontrolē GFAP promotoru un tiek piegādāta ar plazmīdu transfekcijas palīdzību, tādējādi nodrošinot imortalizāciju. Inserts ir stabils no astrocītiem iegūtās primārajās šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur. |

## Biomolekulārie dati

| | |
|---|---|
| **Protein expression** | Izteiktie gēni: alfa 2 makroglobulīns, transferīns |
| **Tumorigenic** | Nē, testēts ar imunosupresētām pelēm, bet veidoja kolonijas pusšķidrā barotnē |
| **Viruses** | Transformants: Sīmiāna vīruss 40 (SV40) |

## Darbs ar

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a) |
| **Supplements** | Papildināt barotni ar 10% FBS |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |

# DI TNC1 šūnas | 305343

| | |
|---|---|
| **Subculturing** | Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne. |
| **Fluid renewal** | 2 līdz 3 reizes nedēļā |
| **Freeze medium** | Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu. |

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

| | |
|---|---|
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra. |

## DI TNC1 šūnas | 305343

| | |
|---|---|
| **Flask Coating** | Neviens |
| **Freezing Procedure** | Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu. |
| **Shipping Conditions** | Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu. |
| **Storage Conditions** | Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli. |

## Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.<br><br>Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda. |