

DI TNC1 Cellen | 305343

Algemene informatie

Description

De DI TNC1 cellijn is een geïmmortaliseerd astrocytenmodel afgeleid van primaire type-1 astrocyten uit het diencephalon van een neonatale rat. De cellen werden geïmmortaliseerd met behulp van het polyomavirus middelste T-antigeen, waardoor ze de mogelijkheid hebben om zich onbeperkt te vermenigvuldigen met behoud van verschillende kenmerken van primaire astrocyten. DI TNC1-cellen worden veel gebruikt in studies naar neuroinflammatie en neuroprotectie, met name voor het onderzoeken van het energiemetabolisme van astrocyten, de respons op oxidatieve stress en de regulatie van ontstekingsroutes. Deze cellen brengen belangrijke astrocytaire markers tot expressie, zoals gliaal fibrillair zuur proteïne (GFAP) en S100 β proteïne, en zijn betrokken bij metabolische processen, waaronder glycogeenopslag en energielevering aan neuronen.

Een van de kenmerkende eigenschappen van DI TNC1 astrocyten is hun betrokkenheid bij studies naar energiemetabolisme. Onderzoek heeft aangetoond dat deze cellen reageren op verschillende neurotransmitters, zoals noradrenaline en vasoactief intestinaal peptide (VIP), door glycogenolyse te ondergaan en het cyclisch AMP (cAMP) niveau te moduleren. Daarnaast is aangetoond dat DI TNC1 cellen glucose gebruiken en lactaat produceren, wat cruciaal is voor de ondersteuning van neuronale functies. Bepaalde reacties in primaire astrocyten, zoals glutamaat-gestimuleerde glycolyse of significante glycogeen resynthese op lange termijn, zijn echter niet zo robuust in DI TNC1 cellen. Dit benadrukt het nut van DI TNC1 cellen bij het ontleden van specifieke aspecten van de astrocyt fysiologie die relevant zijn voor de energiedynamiek in het centrale zenuwstelsel.

Een ander belangrijk onderzoeksgebied met DI TNC1 cellen betreft het onderzoek naar oxidatieve stress en inflammatoire signaalwegen. DI TNC1 cellen zijn bijvoorbeeld gebruikt om de regulatie van de nucleaire factor kappa-licht-keten-enhancer van geactiveerde B-cellen (NF- κ B) en de nucleaire factor erythroïde 2 gerelateerde factor 2 (Nrf2) pathways te analyseren. Experimenten met botanische polyfenolen zoals quercetine en extracten van planten zoals Ashwagandha hebben aangetoond dat deze stoffen de NF- κ B en Nrf2/ARE (antioxidant response element) routes in DI TNC1 astrocyten kunnen moduleren. In het bijzonder bleek quercetine de lipopolysaccharide (LPS)-geïnduceerde NF- κ B-activiteit te remmen en de Nrf2-gemedieerde antioxidantverdediging te versterken. Dit illustreert het potentieel van deze cellen voor het screenen van ontstekingsremmende en neuroprotectieve middelen.

Organism Rat

Tissue Hersenen, diencephalon

Disease Normaal

Synonyms DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Kenmerken

Breed/Subspecies Sprague Dawley

Age 1 dag

DI TNC1 Cellen | 305343

Gender	Ongespecificeerd
Morphology	Fibroblast
Cell type	Astrocyt, type II
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	DI TNC1 (Cytion catalogusnummer 305343)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0247
GMO Status	GMO-S1: Deze astrocytencelijn van ratten (DI TNC1) bevat een SV40 early-region construct onder controle van de GFAP-promotor, geleverd via plasmide-transfectie, waardoor immortalisatie mogelijk is. Het insert is stabiel in primaire astrocyt-afgeleide cellen. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Protein expression	Tot expressie komende genen: alfa 2 macroglobuline, transferrine
Tumorigenic	Nee, getest in immuunsuppressieve muizen, maar vormde wel kolonies in halfvast medium
Viruses	Transformant: Simian virus 40 (SV40)

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS

DI TNC1 Cellen | 305343

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:2 tot 1:6 wordt aanbevolen

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

DI TNC1 Cellen | 305343

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DI TNC1 Cellen | 305343

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.