Product sheet

DI TNC1-celler | 305343

Generell informasjon

Description	DI TNC1-cellelinjen er en udødeliggjort astrocyttmodell avledet fra primære type 1-astrocytter fra diencephalon hos nyfødte rotter. Cellene ble udødeliggjort ved hjelp av polyomavirusets midtre T-antigen, noe som gir dem evnen til å formere seg på ubestemt tid, samtidig som de beholder flere av egenskapene til primære astrocytter. DI TNC1-celler er mye brukt i studier av nevroinflammasjon og nevrobeskyttelse, særlig for å undersøke astrocyttenes energimetabolisme, respons på oksidativt stress og regulering av inflammatoriske signalveier. Disse cellene uttrykker viktige astrocytiske markører, som glial fibrillary acidic protein (GFAP) og S100β-protein, og er involvert i metabolske prosesser, blant annet glykogenlagring og energitilførsel til nevroner. Et av kjennetegnene ved DI TNC1-astrocytter er at de er involvert i studier av energimetabolismen. Forskning har vist at disse cellene reagerer på ulike nevrotransmittere, som noradrenalin og vasoaktivt intestinalt peptid (VIP), ved å gjennomgå glykogenolyse og modulere nivåene av syklisk AMP (cAMP). I tillegg har DI TNC1-celler vist seg å utnytte glukose og produsere laktat, noe som er avgjørende for å støtte nevronale funksjoner. Visse responser som er sett i primære astrocytter, som glutamatstimulert glykolyse eller betydelig langsiktig glykogenresyntese, er imidlertid ikke like robuste i DI TNC1-celler. Dette viser at DI TNC1-celler kan brukes til å dissekere spesifikke aspekter ved astrocyttenes fysiologi som er relevante for energidynamikken i sentralnervesystemet. Et annet viktig studieområde ved bruk av DI TNC1-celler omfatter undersøkelser av oksidativt stress og inflammatoriske signalveier. DI TNC1-celler har for eksempel blitt brukt til å analysere reguleringen av NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) og Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2). Eksperimenter med botaniske polyfenoler som quercetin og ekstrakter fra planter som Ashwagandha har vist at disse forbindelsene kan modulere NF-κB og Nrf2/ARE (antioksidantresponselementet) i DI TNC1-astrocytter. Spesielt har quercetin vist seg å hemme lipopolysakkarid (LPS)-indusert NF-κB-aktivitet og forsterke Nrf2-mediert antioksidantforsvar, noe som illustrerer potensialet disse cellene har for screening av antiinflammatoriske og nevrobeskyttende midler.
Organism	Rotte
Tissue	Hjerne, diencephalon
Disease	Normal
Synonyms	DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Kjennetegn

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	1 dag
Gender	Uspesifisert
Morphology	Fibroblast

DI TNC1-celler | 305343

Cell type	Astrocytt, type II
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	DI TNC1 (Cytion-katalognummer 305343)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0247
GMO Status	GMO-S1: Denne astrocyttcellelinjen fra rotter (DI TNC1) inneholder en SV40 early-region-konstruksjon under GFAP-promotorkontroll levert via plasmidtransfeksjon, noe som muliggjør udødeliggjøring. Innsettet er stabilt i primære astrocytavledede celler. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	Gener uttrykt: alfa-2-makroglobulin, transferrin
Tumorigenic	Nei, testet i immunsupprimerte mus, men dannet kolonier i halvfast medium
Viruses	Transformant: Simian virus 40 (SV40)

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

DI TNC1-celler | 305343

Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:2 til 1:6 anbefales
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.

Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.