Product sheet

Komórki DI TNC1 | 305343

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa DI TNC1 jest unieśmiertelnionym modelem astrocytów pochodzącym z pierwotnych astrocytów typu 1 pobranych z międzymózgowia noworodka szczura. Komórki zostały unieśmiertelnione przy użyciu antygenu środkowego T poliomawirusa, co zapewniło im zdolność do proliferacji w nieskończoność przy jednoczesnym zachowaniu kilku cech pierwotnych astrocytów. Komórki DI TNC1 są szeroko stosowane w badaniach nad neurozapaleniem i neuroprotekcją, w szczególności do badania metabolizmu energetycznego astrocytów, odpowiedzi na stres oksydacyjny i regulacji szlaków zapalnych. Komórki te wyrażają kluczowe markery astrocytarne, takie jak kwaśne białko fibrylarne gleju (GFAP) i białko S100β, i są zaangażowane w procesy metaboliczne, w tym magazynowanie glikogenu i dostarczanie energii do neuronów. Jedną z charakterystycznych cech astrocytów DI TNC1 jest ich zaangażowanie w badania metabolizmu energetycznego. Badania wykazały, że komórki te reagują na różne neuroprzekaźniki, takie jak noradrenalina i wazoaktywny peptyd jelitowy (VIP), ulegając glikogenolizie i modulując poziomy cyklicznego AMP (cAMP). Ponadto wykazano, że komórki DI TNC1 wykorzystują glukozę i wytwarzają mleczan, które są kluczowe dla wspierania funkcji neuronów. Jednak niektóre reakcje obserwowane w pierwotnych astrocytach, takie jak glikoliza stymulowana glutaminianem lub znaczna długoterminowa resynteza glikogenu, nie są tak silne w komórkach DI TNC1. Podkreśla to użyteczność komórek DI TNC1 w badaniu konkretnych aspektów fizjologii astrocytów, które są istotne dla dynamiki energetycznej w ośrodkowym układzie nerwowym. Innym ważnym obszarem badań z wykorzystaniem komórek DI TNC1 jest badanie stresu oksydacyjnego i zapalnych szlaków sygnałowych. Na przykład, komórki DI TNC1 zostały wykorzystane do analizy regulacji czynnika jądrowego kappa-light-chain-enhancer aktywowanych komórek B (NF-κB) i czynnika jądrowego erytroidalnego 2-powiązanego z czynnikiem 2 (Nrf2). Eksperymenty z botanicznymi polifenolami, takimi jak kwercetyna i ekstrakty z roślin takich jak Ashwagandha, wykazały, że związki te mogą modulować szlaki NF-κB i Nrf2/ARE (element odpowiedzi antyoksydacyjnej) w astrocytach DI TNC1. W szczególności stwierdzono, że kwercetyna hamuje aktywność NF-κB indukowaną lipopolisacharydem (LPS) i wzmacnia obronę antyoksydacyjną za pośrednictwem Nrf2, ilustrując potencjał tych komórek do badań przesiewowych środków przeciwzapalnych i neuroprotekcyjnych.
Organism	Szczur
Tissue	Mózg, międzymózgowie
Disease	Normalny
Synonyms	DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Charakterystyka

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	1 dzień
Gender	Nieokreślony

Komórki DI TNC1 | 305343

Morphology	Fibroblast
Cell type	Astrocyt, typ II
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	DI TNC1 (numer katalogowy Cytion 305343)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0247
GMO Status	GMO-S1: Ta szczurza linia komórkowa astrocytów (DI TNC1) zawiera konstrukt wczesnego regionu SV40 pod kontrolą promotora GFAP dostarczany poprzez transfekcję plazmidową, umożliwiając immortalizację. Wstawka jest stabilna w pierwotnych komórkach pochodzących z astrocytów. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression	Wyrażane geny: alfa2 makroglobulina, transferyna
Tumorigenic	Nie, testowane na myszach z immunosupresją, ale tworzyły kolonie na podłożu półstałym
Viruses	Transformant: Simian virus 40 (SV40)

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Komórki DI TNC1 | 305343

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:6
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki DI TNC1 | 305343

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.