Product sheet

Células DI TNC1 | 305343

Informações gerais

Description	A linha celular DI TNC1 é um modelo de astrócito imortalizado derivado de astrócitos primários do tipo 1 retirados do diencéfalo de um rato neonatal. As células foram imortalizadas utilizando o antigénio T médio do poliomavírus, o que lhes confere a capacidade de proliferar indefinidamente, mantendo várias caraterísticas dos astrócitos primários. As células DI TNC1 são amplamente utilizadas em estudos de neuroinflamação e neuroprotecção, particularmente para explorar o metabolismo energético astrocítico, a resposta ao stress oxidativo e a regulação das vias inflamatórias. Estas células expressam marcadores astrocíticos fundamentais, como a proteína glial fibrilar ácida (GFAP) e a proteína S100β, e estão envolvidas em processos metabólicos, incluindo o armazenamento de glicogénio e o fornecimento de energia aos neurónios. Uma das caraterísticas distintivas dos astrócitos DI TNC1 é o seu envolvimento em estudos sobre o metabolismo energético. A investigação demonstrou que estas células respondem a vários neurotransmissores, como a noradrenalina e o péptido intestinal vasoativo (VIP), através da glicogenólise e da modulação dos níveis de AMP cíclico (AMPc). Além disso, foi demonstrado que as células DI TNC1 utilizam a glucose e produzem lactato, que são cruciais para apoiar as funções neuronais. No entanto, certas respostas observadas em astrócitos primários, como a glicólise estimulada por glutamato ou a ressíntese significativa de glicogénio a longo prazo, não são tão robustas nas células DI TNC1. Este facto realça a utilidade das células DI TNC1 na dissecação de aspectos específicos da fisiologia astrocitária que são relevantes para a dinâmica energética no sistema nervoso central. Outra área importante de estudo utilizando células DI TNC1 envolve a investigação do stress oxidativo e das vias de sinalização inflamatória. Por exemplo, as células DI TNC1 foram utilizadas para analisar a regulação do fator nuclear kappa-light-chain-enhancer das células B activadas (NF-κB) e as vias do fator nuclear eritroide 2 relacionado com o fator 2 (Nrf2). Experiências com polifenóis botânicos como a quercetina e extractos de plantas como a Ashwagandha mostraram que estes compostos podem modular as vias NF-κB e Nrf2/ARE (elemento de resposta antioxidante) nos astrócitos DI TNC1. Especificamente, verificou-se que a quercetina inibe a atividade do NF-κB induzida por lipopolissacarídeos (LPS) e aumenta as defesas antioxidantes mediadas pelo Nrf2, ilustrando o potencial destas células para o rastreio de agentes anti-inflamatórios e neuroprotectores.
Organism	Rato
Tissue	Cérebro, diencéfalo
Disease	Normal
Synonyms	DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Caraterísticas

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	1 dia
Gender	Não especificado

Product sheet

Células DI TNC1 | 305343

Morphology	Fibroblastos
Cell type	Astrócito, tipo II
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	DI TNC1 (número de catálogo Cytion 305343)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0247
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular de astrócitos de rato (DI TNC1) contém uma construção da região precoce do SV40 sob o controlo do promotor GFAP, fornecida através da transfecção de plasmídeos, permitindo a imortalização. A inserção é estável em células primárias derivadas de astrócitos. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression	Genes expressos: alfa 2 macroglobulina, transferrina
Tumorigenic	Não, testado em ratinhos imunossuprimidos, mas formou colónias em meio semi-sólido
Viruses	Transformante: Vírus símio 40 (SV40)

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO3, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Células DI TNC1 | 305343

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Células DI TNC1 | 305343

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.