

**Bunky DI TNC1 | 305343****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia DI TNC1 je immortalizovaný model astrocytov odvodený z primárnych astrocytov typu 1 odobratých z diencefala novorodeného potkana. Bunky boli immortalizované pomocou polyomavírusového stredného T-antigénu, ktorý im poskytuje schopnosť neobmedzene sa množiť pri zachovaní viacerých charakteristík primárnych astrocytov. Bunky DI TNC1 sa široko používajú v štúdiách neurozápalov a neuroprotektie, najmä na skúmanie energetického metabolizmu astrocytov, reakcie na oxidačný stres a regulácie zápalových dráh. Tieto bunky exprimujú kľúčové astrocytárne markery, ako je gliový fibrilárny kyslý proteín (GFAP) a proteín S100 $\beta$ , a podieľajú sa na metabolických procesoch vrátane ukladania glykogénu a dodávania energie neurónom.

Jedným z charakteristických znakov astrocytov DI TNC1 je ich zapojenie do štúdií energetického metabolizmu. Výskum preukázal, že tieto bunky reagujú na rôzne neurotransmitery, ako je noradrenalin a vazopresín, a modulujú hladiny cyklického AMP (cAMP). Okrem toho sa ukázalo, že bunky DI TNC1 využívajú glukózu a produkujú laktát, ktoré sú kľúčové pre podporu funkcií neurónov. Niektoré reakcie pozorované v primárnych astrocytoch, ako napríklad glutamátom stimulovaná glykolyza alebo významná dlhodobá resyntéza glykogénu, však nie sú v bunkách DI TNC1 také silné. To poukazuje na užitočnosť DI TNC1 buniek pri rozbere špecifických aspektov fyziológie astrocytov, ktoré sú dôležité pre energetickú dynamiku v centrálnom nervovom systéme.

Ďalšia významná oblasť štúdia s využitím DI TNC1 buniek zahŕňa výskum oxidačného stresu a zápalových signálnych dráh. Bunky DI TNC1 sa napríklad použili na analýzu regulácie dráh nukleárneho faktora kappa-light-chain-enhancer aktivovaných B-buniek (NF- $\kappa$ B) a nukleárneho faktora erytroidného faktora 2 (Nrf2). Experimenty s rastlinnými polyfenolmi, ako je kvercetin, a extraktmi z rastlín, ako je ašvaganda, ukázali, že tieto zlúčeniny môžu modulovať dráhy NF- $\kappa$ B a Nrf2/ARE (antioxidačný prvok odpovede) v astrocytoch DI TNC1. Konkrétne sa zistilo, že kvercetin inhibuje aktivitu NF- $\kappa$ B vyvolanú lipopolysacharidom (LPS) a zvyšuje antioxidačnú obranu sprostredkovanú Nrf2, čo ilustruje potenciál týchto buniek na skrining protizápalových a neuroprotektívnych látok.

**Organism** Krysy**Tissue** Mozog, diencephalon**Disease** Normálne**Synonyms** DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1**Charakteristika****Breed/Subspecies** Sprague Dawley**Age** 1 deň**Gender** Nešpecifikované

**Bunky DI TNC1 | 305343****Morphology** Fibroblasty**Cell type** Astrocyt, typ II**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** DI TNC1 (katalógové číslo Cytion 305343)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_0247**GMO Status** GMO-S1: Táto línia potkaních astrocytových buniek (DI TNC1) obsahuje konštrukt SV40 so skorým regiónom pod kontrolou promotora GFAP, ktorý sa dodáva transfekciou plazmidu, čo umožňuje imortalizáciu. Vložka je stabilná v primárnych bunkách odvodených od astrocytov. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Expresia génov: alfa 2 makroglobulín, transferín**Tumorigenic** Nie, testované na imunosuprimovaných myšiach, ale tvorili kolónie v polotuhom médiu**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

**Bunky DI TNC1 | 305343**

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstredujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

## Bunky DI TNC1 | 305343

**Flask Coating**      Žiadne

**Freezing Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Storage Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

**Sterility**

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.