

For research use only. Not for clinical diagnosis.

# Astrocyte, Rat

# Catalog No. AST01C

August 9, 2024

### I. Product Overview

Astrocyte is one of the glial cells in the central nervous system, which plays an important role in the construction of the nervous system, homeostasis of extracellular fluid, and formation of the blood-brain barrier.

This product is a frozen astrocyte isolated from SD rat fetal brain. It can be used for experiments such as antioxidant and anti-inflammatory, response to various cytokines, and gliosis.

#### II. Precautions before use

Please be sure to read this manual before use.

This product should be operated under aseptic conditions. The biosafety level is [Level 1]. Please use the dedicated medium (sold separately) for culturing this product.

### **III.** Product Warranty

The product is warranted against growth failure after the start of culture only when cells are properly stored in liquid nitrogen and cultured according to the manual using the dedicated medium and reagents.

The warranty period is within 6 months from the date of receipt of the product.

Please note that the warranty does not apply to any modifications to the medium or method of use, or to the use of re-frozen cells.

## **IV.** Product Composition

Composition	Capacity	Number of bottles	Storage Temperature	Expiration date
Rat astrocytes (frozen cells)	1×10 <sup>6</sup> cells/vial	1 vial	Liquid nitrogen storage	6 months

Please store frozen cells in liquid nitrogen if not used immediately after receipt.

Cells are confirmed GFAP-positive.

## V. Cell origin

Cerebrum of fetal SD rats (E18-E20)

## VI. Dedicated Medium (sold separately)

Product name	Catalog No.	Volume	Storage Temperature	Expiration Date
Culture Medium for Astrocytes	ASTM	250 mL	Store at -20°C (Store at 4°C after thawing)	Bottle description (Store at -20°C) 3 months after thawing (stored at 4°C)

Main components of culture medium: DMEM/F12, serum, others

#### VII. Procedure

\*This product cannot be passaged.

### Cell thawing and seeding

\*Frozen cells of this product are shipped in dry ice packaging. Cells should be cultured immediately upon receipt. For long-term storage, store in liquid nitrogen.

[Preparation]

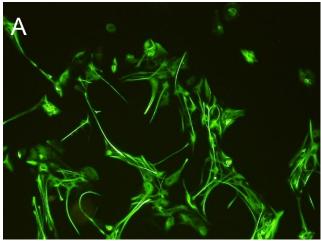
Culture medium for astrocytes: ASTM

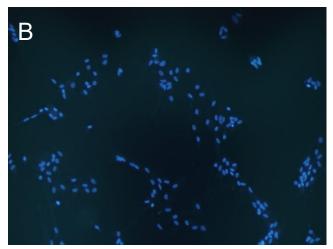
- 1. Thaw the vial of frozen cells by warming the vial in 37°C water for 2 minutes.
- Transfer the thawed cell suspension to a 50 mL centrifuge tube containing 10 mL of culture medium for astrocytes, mix the thawed cell suspension with the culture medium in the centrifuge tube, and then remove 1 mL of the culture medium from the centrifuge tube and collect the cell suspension by prewashing the vials.
- 3. Seed the above cell suspension at a density of 0.5 to  $1.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> and culture in a 37°C incubator in the presence of 5% CO<sub>2</sub>.
  - \*We recommend seeding without centrifugal washing because the damage to cells caused by centrifugal washing after thawing is greater than the damage caused by residual frozen cell suspension, which may result in poor cell adhesion and proliferation.
- 4. The medium should be changed once the day after seeding, and 2 or 3 times a week thereafter, using medium warmed to 37°C.
  - \*The cells will be 80% to 100% confluent 3 to 5 days after seeding.
  - \*Because astrocytes do not adhere well to glass surfaces, when cultured on glass slides or glass dishes, seed cells at a density of  $2.0-5.0 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> and culture for about 1 week until 80-100% confluence is achieved.

### VIII. Frequently Asked Questions

- Q. Can the cells be passaged?
- A. This product is a primary cell isolated from organs, so we do not recommend passaging, as the proliferative non-astrocyte cells will predominate in the culture.
- Q. Is the purity of astrocytes measured?
- A. We do not measure the purity of astrocytes, but we have confirmed that almost 90% or more of the cells are GFAP-positive by visual confirmation in immunostaining.

## IX. Technical Information





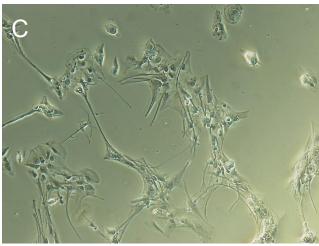


Fig. 1. Cell morphology
A. Anti-GFAP antibody staining
B. Nuclear staining C. Bright field

GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) is an intermediate-sized filament with a molecular weight of about 50 kDa found specifically in astrocytes, and its expression is known to be increased in neurological diseases such as brain damage, dementia, prion diseases, and multiple sclerosis.

# X. References

1) Miller, R. H., French-Constant, C., and Raff, M. C. (1989). The macroglial cells of the rat optic nerve. Annu. Rev. Neurosci. 12, 517-534.



### 凍結初代細胞製品

# ラットアストロサイト

【 Rat Astrocyte, 品番: AST01C 】

2024年8月9日改訂

※本製品は、研究目的にのみご使用になれます。

### XI. 製品概要

アストロサイト (astrocyte) は中枢神経系に存在するグリア細胞の1つで、神経系の構築、細胞外液の恒常性維持、血液脳関門の形成などの重要な役割を果たしている細胞です。

本製品は、SD ラット胎児脳から分離させたアストロサイトを凍結したものです。抗酸化・抗炎症、各種サイトカインへの反応、グリオーシスなどの実験に使用できます。

### XII. 使用前注意事項

本マニュアルを使用前に必ずご確認ください。

本製品はすべて【無菌操作】で実施して下さい。バイオセーフティーレベルは【レベル 1】です。 本製品の培養には別売の専用メディウムをご使用下さい。

## XIII. 製品の保証について

細胞を液体窒素にて正しく保存し、専用メディウム及び試薬を用いてマニュアル通りに培養された場合のみ、培養開始後の増殖不良に関して保証致します。

保証期限は【製品お受け取りから6ヶ月以内】です。

メディウムや使用方法に変更を加えられた場合や、再凍結した細胞を使用された場合は、保証の対象になりませんのでご注意ください。

## XIV. 製品構成

構成	容量	本数	保存方法	有効期限
ラットアストロサイト (凍結細胞)	1×10 <sup>6</sup> cells/vial	1本	液体窒素保存	6 ヶ月

※受け取り後、直ちにご使用にならない場合は凍結細胞を液体窒素にて保存してください ※細胞は GFAP 陽性確認済み

### XV. 細胞の由来

SD ラット胎児 (E18~E20) の大脳

### XVI. 専用メディウム (別売)

品名	品番	容量	保存方法	有効期限
アストロサイト用 培養メディウム	ASTM	250 mL	-20℃保存 (解凍後は 4℃保存)	ボトル記載(−20℃保存) 解凍後 3 ヶ月(4℃保存)

培地の主成分: DMEM/F12、血清、その他



### XVII. 操作方法

※本製品は【継代不可】です。

### 細胞解凍•播種

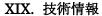
※本製品の凍結細胞は、ドライアイス梱包で発送しています。受領した細胞は直ちに培養を開始してください。 長期保管する場合は液体窒素中で保存してください。

### 【準備するもの】

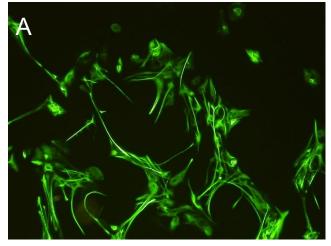
- ・アストロサイト用培養メディウム
- 1. 凍結細胞のバイアルを、37℃温水にて2分間加温して解凍してください。
- 2. 解凍した細胞液は、予めアストロサイト用培養メディウム・10 mL が入っている 50 mL 遠沈管に移し混和した後、遠沈管内の培養メディウムを 1mL 分取し、バイアルを共洗いして細胞液を回収してください。
- 3. 上記の細胞懸濁液を 0.5~1×10<sup>4</sup>cells/cm<sup>2</sup> の密度で播種し、5%CO2 存在下の 37℃インキュベーターで培養してください。
  - ※解凍後の遠心洗浄による細胞へのダメージは、細胞凍結液の残存によるダメージよりも大きく、細胞の接着や増殖が悪くなることがありますので、遠心洗浄を行わないで播種されることをお勧め致します。
- 4. 培地交換は37℃に加温したメディウムを用いて、播種後翌日に1回、その後は1週間に2、3回の頻度でおこなってください。
- ※播種してから  $3\sim5$  日後に  $80\sim100\%$  コンフルエントになります。
- ※アストロサイトはガラス面への接着力が弱いため、スライドガラスやガラスディッシュで培養する場合は、播種する細胞密度を  $2\sim5\times10^4$  cells/cm² にし、1 週間程度培養で  $80\sim100\%$  コンフルエントになります。

### XVIII. よくある質問

- Q. 継代は出来ますか?
- A. 本製品は臓器から採取した初代細胞ですので、継代を行うと増殖の強い非アストロサイト細胞が優勢になるため、継代はお勧めしておりません。
- Q. アストロサイトの純度は測定していますか?
- A. アストロサイトの純度の測定は行っておりませんが、免染での目視確認において、ほぼ 9 割以上の GFAP 陽性細胞がいることを確認しております。









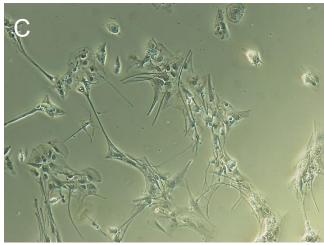


図 1. 細胞形態 A. 抗 GFAP 抗体染色 B. 核染色 C. 明視 野

GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) は、アストロサイトに特異的に見られる分子量約 50kDaの中間径フィラメントで、脳損傷や認知症、プリオン病、多発性硬化症 などの神経疾患で発現量が増加することも知られています。

# XX. 参考文献

1) Miller, R. H., French-Constant, C., and Raff, M. C. (1989). The macroglial cells of the rat optic nerve. Annu. Rev. Neurosci. 12, 517-534.