

Клетки HT22 | 305158

Обща информация

Description

Клетъчната линия HT22, имортиализиран субклон, получен от клетките HT4 на мишия хипокампус, е от основно значение за неврофармакологичните изследвания. Произхождащи от обезсмъртяването на миши невронни тъкани с чувствителен към температурата SV40 Т-антиген, клетките HT22 предлагат уникален *in vitro* модел за изследване на механизмите, лежащи в основата на индуцираната от глутамат цитотоксичност, която играе значителна роля при невродегенеративните разстройства като болестите на Алцхаймер, Хънтингтън и Паркинсон.

Клетките HT22 имат невронен фенотип и са силно чувствителни към глутамат - основен възбуждащ невротрансмитер, участващ в критични мозъчни функции като познание, учене и памет. Прекомерният прием на глутамат обаче може да доведе до глутаматна токсичност и свръхвъзбуда на нервните клетки, причинявайки клетъчно увреждане или смърт чрез механизми, които включват оксидативен стрес и апоптоза.

Миши хипокампални клетки HT22 се използват в проучвания за невротоксичност, като например тези, които изследват ефектите от излагането на изофлуран, за изследване на хроматиновия пейзаж и епигенетичните характеристики, както и за изследване на ефектите на серотонинергичното въздействие върху хипокампалната неврогенеза. Последното включва изучаването на инхибиторите на обратното захващане на серотонина и ролята им при скрининга на антидепресанти, както и влиянието на гликозилирането на серотониновия транспортер (SERT) върху невронната функция.

Клетъчната линия HT22, с нейния добре характеризирани отговор към глутамат и полезността ѝ за изучаване на серотонинергичната система, продължава да бъде ценен инструмент в развитието на неврофармакологията и разработването на лечения за редица неврологични заболявания.

Organism Мишка

Tissue Мозък, хипокамп

Synonyms HT-22

Характеристики

Morphology Епителиален

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation HT22 (каталожен номер 305158 на Cytion)

Biosafety level 1

Клетки HT22 | 305158

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0321

GMO Status ГМО-S1: Тази миша хипокампадна невронна клетъчна линия (HT22) съдържа ретровирусен конструкт, кодиращ температурно чувствителен SV40 Т-антиген, който подпомага условното обезсмъртяване. Възстановяването е стабилно в невронните прекурсорни клетки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме 50% базова среда + 40% FBS + 10% DMSO или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HT22 | 305158

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HT22 | 305158

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.