

Buňky HT22 | 305158

Obecné informace

Description

Buněčná linie HT22, imortalizovaný subklon odvozený z buněk HT4 myšího hipokampu, je klíčová pro neurofarmakologický výzkum. Buňky HT22, které vznikly imortalizací myších neuronálních tkání pomocí teplotně citlivého T-antigenu SV40, představují jedinečný in vitro model pro zkoumání mechanismů, které jsou základem cytotoxicity vyvolané glutamátem, jež hraje významnou roli u neurodegenerativních poruch, jako je Alzheimerova, Huntingtonova a Parkinsonova choroba.

Buňky HT22 vykazují neuronální fenotyp a jsou vysoce citlivé na glutamát, základní excitační neurotransmiter, který se podílí na kritických mozkových funkcích, jako je poznávání, učení a paměť. Nadměrný příjem glutamátu však může vést ke glutamátové toxicitě a nadměrné excitaci nervových buněk, což způsobuje poškození nebo smrt buněk prostřednictvím mechanismů, které zahrnují oxidační stres a apoptózu.

Myší hipokampální buňky HT22 se používají ve studiích neurotoxicity, například při zkoumání účinků expozice isofluranu, ke zkoumání chromatinového prostředí a epigenetických znaků a ke zkoumání účinků serotoninergního vstupu na hipokampální neurogenezi. K poslední jmenovanému patří studium inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu a jejich role při screeningu antidepresiv, jakož i vliv glykosylace serotoninového transportéru (SERT) na funkci neuronů.

Buněčná linie HT22 s dobře charakterizovanou reakcí na glutamát a užitečností při studiu serotoninergního systému je i nadále cenným nástrojem při rozvoji neurofarmakologie a vývoji léčby řady neurologických poruch.

Organism Myš**Tissue** Mozek, hipokampus**Synonyms** HT-22

Charakteristika

Morphology Epitelové**Growth properties** Adherentní

Regulační údaje

Citation HT22 (katalogové číslo Cytion 305158)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090

Buňky HT22 | 305158

CellosaurusAccession CVCL_0321**GMO Status**

GMO-S1: Tato linie myších hipokampálních neuronálních buněk (HT22) obsahuje retrovirový konstrukt kódující teplotně citlivý SV40 T-Antigen, který podporuje podmíněnou imortalizaci. Vložka je stabilně přítomna v neuronálních prekursorových buňkách. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data**Zpracování****Culture Medium**

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements

Doplňte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio

1:3 až 1:6

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.

Buňky HT22 | 305158**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HT22 | 305158

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.