

HT22 šūnas | 305158

Vispārīga informācija

Description

HT22 šūnu līnija - imortizēts subklons, kas iegūts no peles hipokampusa HT4 šūnām - ir ļoti svarīga neirofarmakoloģiskajos pētījumos. HT22 šūnas, kas radušās, imortalizējot peļu neironu audus ar temperatūras jutīgu SV40 T-antigēnu, ir unikāls in vitro modelis, lai pētītu mehānismus, kas ir pamatā glutamāta izraisītajai citotoksicitātei, kurai ir nozīmīga loma neirodeģeneratīvo slimību, piemēram, Alzheimer, Hantingtona un Parkinsona slimību, gadījumā.

HT22 šūnām piemīt neironu fenotips, un tās ir ļoti jutīgas pret glutamātu - būtisku uzbudinošu neiromediatoru, kas ir iesaistīts tādās svarīgās smadzeņu funkcijās kā izziņa, mācīšanās un atmiņa. Tomēr pārmērīga glutamāta uzņemšana var izraisīt glutamāta toksicitāti un nervu šūnu pārmērīgu uzbudinājumu, izraisot šūnu bojājumus vai nāvi, izmantojot mehānismus, kas ietver oksidatīvo stresu un apoptozi.

HT22 peļu hipokampa šūnas izmanto neirotoksicitātes pētījumos, piemēram, pētījumos par izoflurāna iedarbības ietekmi, lai izpētītu hromatīna ainavu un epigenētiskās pazīmes, kā arī lai izpētītu serotonīnerģiskās iedarbības ietekmi uz hipokampa neirogēzi. Pēdējā no šīm darbībām ietver serotonīna atpakaļsaistes inhibitoru izpēti un to nozīmi antidepresantu skrīningā, kā arī serotonīna transportiera (SERT) glikozilēšanas ietekmi uz neironu darbību.

HT22 šūnu līnija ar tās labi raksturoto reakciju uz glutamātu un lietderību serotonīnerģiskās sistēmas izpētē joprojām ir vērtīgs instruments neirofarmakoloģijas attīstībā un dažādu neiroloģisku traucējumu ārstēšanas līdzekļu izstrādē.

Organism

Pele

Tissue

Smadzenes, hipokamps

Synonyms

HT-22

Raksturojums

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

HT22 (Cytion kataloga numurs 305158)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

HT22 šūnas | 305158

CellosaurusAccession CVCL_0321**GMO Status** GMO-S1: Šī peļu hipokampa neironu šūnu līnija (HT22) satur retrovīrusu konstrukciju, kas kodē temperatūras jutīgu SV40 T-antigēnu, kas atbalsta nosacītu imortalizāciju. Ievietojums ir stabili klātesošs neironu prekursoru šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

HT22 šūnas | 305158

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HT22 šūnas | 305158

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.