

Komórki HT22 | 305158

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HT22, unieśmiertelniony podklon pochodzący z komórek HT4 mysiego hipokampa, ma kluczowe znaczenie w badaniach neurofarmakologicznych. Powstałe w wyniku unieśmiertelnienia mysich tkanek neuronalnych za pomocą wrażliwego na temperaturę antygenu SV40 T, komórki HT22 oferują unikalny model in vitro do badania mechanizmów leżących u podstaw cytotoksyczności indukowanej glutaminianem, która odgrywa istotną rolę w zaburzeniach neurodegeneracyjnych, takich jak choroby Alzheimera, Huntingtona i Parkinsona.

Komórki HT22 wykazują fenotyp neuronów i są bardzo wrażliwe na glutaminian, niezbędny neuroprzebieżnik pobudzający zaangażowany w krytyczne funkcje mózgu, takie jak funkcje poznawcze, uczenie się i pamięć. Jednak nadmierne spożycie glutaminianu może prowadzić do toksyczności glutaminianu i nadmiernego pobudzenia komórek nerwowych, powodując uszkodzenie lub śmierć komórek poprzez mechanizmy obejmujące stres oksydacyjny i apoptozę.

Komórki hipokampa myszy HT22 są wykorzystywane w badaniach neurotoksyczności, takich jak te badające wpływ ekspozycji na izofluran, do badania krajobrazu chromatyny i sygnatur epigenetycznych oraz do badania wpływu serotonergicznego na neurogenezę hipokampa. To ostatnie obejmuje badanie inhibitorów wychwyty zwrotnego serotoniny i ich roli w badaniach przesiewowych leków przeciwdepresyjnych, a także wpływu glikozylacji transportera serotoniny (SERT) na funkcjonowanie neuronów.

Linia komórkowa HT22, z dobrze scharakteryzowaną odpowiedzią na glutaminian i jej użytecznością w badaniu układu serotonergicznego, nadal jest cennym narzędziem w rozwoju neurofarmakologii i opracowywaniu metod leczenia szeregu zaburzeń neurologicznych.

Organism Mysz**Tissue** Mózg, hipokamp**Synonyms** HT-22

Charakterystyka

Morphology Nabłonek**Growth properties** Adherent

Dane regulacyjne

Citation HT22 (numer katalogowy Cytion 305158)**Biosafety level** 1

Komórki HT22 | 305158

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0321

GMO Status GMO-S1: Ta mysia linia komórek neuronalnych hipokampa (HT22) zawiera konstrukt retrowirusowy kodujący wrażliwy na temperaturę antygen SV40 T, wspomagający warunkową immortalizację. Wstawka jest stabilnie obecna w neuronalnych komórkach prekursorowych. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio 1:3 do 1:6

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HT22 | 305158

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HT22 | 305158

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.