

Células HT22 | 305158**Informações gerais****Description**

A linha celular HT22, um subclone imortalizado derivado das células HT4 do hipocampo do rato, é fundamental na investigação neurofarmacológica. Originadas através da imortalização de tecidos neuronais do rato com um antígeno SV40 T sensível à temperatura, as células HT22 oferecem um modelo in vitro único para investigar os mecanismos subjacentes à citotoxicidade induzida pelo glutamato, que desempenha um papel significativo em doenças neurodegenerativas como as doenças de Alzheimer, Huntington e Parkinson.

As células HT22 exibem um fenótipo neuronal e são altamente sensíveis ao glutamato, um neurotransmissor excitatório essencial envolvido em funções cerebrais críticas como a cognição, a aprendizagem e a memória. Contudo, a ingestão excessiva de glutamato pode levar à toxicidade do glutamato e à sobre-excitação das células nervosas, causando danos ou morte celular através de mecanismos que envolvem o stress oxidativo e a apoptose.

As células do hipocampo do rato HT22 são utilizadas em estudos de neurotoxicidade, como os que examinam os efeitos da exposição ao isoflurano, para explorar a paisagem da cromatina e as assinaturas epigenéticas, e para examinar os efeitos do input serotoninérgico na neurogênese do hipocampo. Este último inclui o estudo dos inibidores da recaptação da serotonina e o seu papel no rastreio de antidepressivos, bem como o impacto da glicosilação do transportador de serotonina (SERT) na função neuronal.

A linha celular HT22, com a sua resposta bem caracterizada ao glutamato e a sua utilidade no estudo do sistema serotoninérgico, continua a ser uma ferramenta valiosa para o avanço da neurofarmacologia e o desenvolvimento de tratamentos para uma série de perturbações neurológicas.

Organism Rato**Tissue** Cérebro, hipocampo**Synonyms** HT-22**Caraterísticas****Morphology** Epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** HT22 (número de catálogo Cytion 305158)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090

Células HT22 | 305158**CellosaurusAccession** CVCL_0321

GMO Status OGM-S1: Esta linha de células neuronais do hipocampo murino (HT22) contém uma construção retroviral que codifica o antígeno T do SV40 sensível à temperatura, apoiando a imortalização condicional. A inserção está presente de forma estável nas células precursoras neuronais. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1:3 a 1:6

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

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

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HT22 | 305158

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.