

Bunky HT22 | 305158**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HT22, imortalizovaný subklon odvodený z buniek HT4 myšieho hipokampu, je kľúčová v neurofarmakologickom výskume. Bunky HT22, ktoré vznikli imortalizáciou myších neurónových tkanív pomocou teplotne citlivého T-antigénu SV40, ponúkajú jedinečný in vitro model na skúmanie mechanizmov, ktoré sú základom glutamátom indukovanej cytotoxicity, ktorá hrá významnú úlohu pri neurodegeneratívnych poruchách, ako sú Alzheimerova, Huntingtonova a Parkinsonova choroba.

Bunky HT22 vykazujú neuronálny fenotyp a sú vysoko citlivé na glutamát, základný excitačný neurotransmitter, ktorý sa podieľa na kritických funkciách mozgu, ako je poznávanie, učenie a pamäť. Nadmerný príjem glutamátu však môže viesť k glutamátovej toxicite a nadmernej excitácii nervových buniek, čo spôsobuje poškodenie alebo smrť buniek prostredníctvom mechanizmov, ktoré zahŕňajú oxidačný stres a apoptózu.

Myšie hipokampálne bunky HT22 sa využívajú v štúdiách neurotoxicity, napríklad pri skúmaní účinkov expozície izofluránu, na skúmanie chromatinovej krajiny a epigenetických znakov a na skúmanie účinkov serotonínergického vstupu na hipokampálnu neurogenézu. Posledné uvedené zahŕňa štúdium inhibítorov spätného vychytávania serotonínu a ich úlohu pri skríningu antidepresív, ako aj vplyv glykozylácie serotonínového transportéra (SERT) na funkciu neurónov.

Bunková línia HT22 s dobre charakterizovanou reakciou na glutamát a jej využiteľnosťou pri štúdiu serotonínergického systému je naďalej cenným nástrojom pri napredovaní neurofarmakológie a vývoji liečby celého radu neurologických porúch.

Organism Myš**Tissue** Mozog, hipokampus**Synonyms** HT-22**Charakteristika****Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** HT22 (katalógové číslo Cytion 305158)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090

Bunky HT22 | 305158**CellosaurusAccession** CVCL_0321

GMO Status GMO-S1: Táto línia myších hipokampálnych neurónových buniek (HT22) obsahuje retrovírusový konštrukt kódujúci teplotne citlivý SV40 T-Antigen, ktorý podporuje podmienenú imortalizáciu. Vložka je stabilne prítomná v neuronálnych prekursorových bunkách. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje**Spracovanie**

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

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HT22 | 305158

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HT22 | 305158

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.