

HT22 rakud | 305158

Üldine teave

Description

HT22 rakuliin, mis on hiire hipokampuse HT4 rakkudest saadud immortaliseeritud subkloon, on neurofarmakoloogilistes uuringutes keskse tähtsusega. HT22 rakud, mis pärinevad hiire neuronaalsete kudede immortaliseerimisest temperatuuritundliku SV40 T-antigeeniga, pakuvad ainulaadset in vitro mudelit glutamaadi põhjustatud tsütotoksilisuse aluseks olevate mehhanismide uurimiseks, mis mängib olulist rolli neurodegeneratiivsete haiguste, nagu Alzheimeri, Huntingtoni ja Parkinsoni tõve puhul.

HT22 rakkudel on neuronaalne fenotüüp ja nad on väga tundlikud glutamaadi suhtes, mis on oluline erutav neurotransmitter, mis on seotud kriitiliste ajufunktsioonidega, nagu tunnetus, õppimine ja mälu. Liigne glutamaadi tarbimine võib aga põhjustada glutamaadi toksilisust ja närvirakkude üleerutamist, põhjustades rakkude kahjustusi või surma mehhanismide kaudu, mis hõlmavad oksüdatiivset stressi ja apoptoosi.

HT22 hiire hipokampuse rakke kasutatakse neurotoksisuse uuringutes, näiteks isofluraaniga kokkupuute mõju uurimiseks, kromatiini maastiku ja epigeneetiliste tunnuste uurimiseks ning serotonergilise sisendi mõju uurimiseks hipokampuse neurogeneesile. Viimane hõlmab serotoniini tagasihaarde inhibiitorite ja nende rolli uurimist antidepressantide sõelumisel, samuti serotoniini transporteri (SERT) glükosüülimise mõju neuronaaalsele funktsioonile.

HT22 rakuliin, mille reaktsioon glutamaadile on hästi iseloomustatud ja mis on kasulik serotonergilise süsteemi uurimisel, on jätkuvalt väärtuslik vahend neurofarmakoloogia edendamisel ja mitmete neuroloogiliste häirete ravimeetodite väljatöötamisel.

Organism Hiir**Tissue** Aju, hipokampus**Synonyms** HT-22

Omadused

Morphology Epiteel**Growth properties** Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HT22 (Cytioni katalooginumbr 305158)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090

HT22 rakud | 305158

CellosaurusAccession CVCL_0321

GMO Status

GMO-S1: See hiirte hipokampuse neuronaalne rakuliin (HT22) sisaldab retroviiruslikku konstruktsiooni, mis kodeerib temperatuuritundlikku SV40 T-antigeeni, mis toetab tingimuslikku immortaliseerimist. Insert on stabiilselt olemas neuronaalsetes eellaste rakkudes. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium

Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

HT22 rakud | 305158

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HT22 rakud | 305158

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.