

HT22-solut | 305158

Yleisiä tietoja

Description

HT22-solulinja, hiiren hippokampuksen HT4-soluista peräisin oleva kuolematon aliklooni, on keskeisessä asemassa neurofarmakologisessa tutkimuksessa. HT22-solut ovat peräisin hiiren hermosolukudosten kuolemattomaksi tekemisestä lämpötilaherkällä SV40 T-antigeenillä, ja ne tarjoavat ainutlaatuisen in vitro -mallin glutamaatin aiheuttaman sytotoksisuuden taustalla olevien mekanismien tutkimiseen, sillä glutamaatilla on merkittävä rooli neurodegeneratiivisissa sairauksissa, kuten Alzheimerin, Huntingtonin ja Parkinsonin taudissa.

HT22-soluilla on neuronaalinen fenotyyppi, ja ne ovat erittäin herkkiä glutamaatille, joka on olennainen kiihdyttävä välittäjäaine, joka osallistuu kriittisiin aivotoimintoihin, kuten kognitioon, oppimiseen ja muistiin. Liiallinen glutamaatin saanti voi kuitenkin johtaa glutamaattitoksisuuteen ja hermosolujen yliherkistymiseen, mikä aiheuttaa soluvaurioita tai kuolemaa mekanismien kautta, joihin liittyy oksidatiivista stressiä ja apoptoosia.

HT22-hiiren hippokampussoluja käytetään neurotoksisuustutkimuksissa, kuten isofluraanialtistuksen vaikutuksia tutkittaessa, kromatiinimaiseman ja epigeneettisten merkkien tutkimiseen sekä serotonergisen vaikutuksen tutkimiseen hippokampuksen neurogeneesiin. Jälkimmäiseen kuuluu serotoniinin takaisinoton estäjien ja niiden roolin tutkiminen masennuslääkkeiden seulonnassa sekä serotoniinikuljettajan (SERT) glykosylaation vaikutus hermosolujen toimintaan.

HT22-solulinja, jonka glutamaattivaste on hyvin karakterisoitu ja joka on käyttökelpoinen serotonergisen järjestelmän tutkimisessa, on edelleen arvokas väline neurofarmakologian edistämisessä ja useiden neurologisten sairauksien hoitojen kehittämisessä.

Organism Hiiri**Tissue** Aivot, hippokampus**Synonyms** HT-22

Ominaisuudet

Morphology Epiteeli**Growth properties** Tarttuva

Säätelytiedot

Citation HT22 (Cytionin luettelonumero 305158)**Biosafety level** 1

HT22-solut | 305158

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0321

GMO Status GMO-S1: Tämä hiiren hippokampuksen hermosolulinja (HT22) sisältää retroviruskonstruktiota, joka koodaa lämpötilaherkkää SV40 T-antigeenia ja tukee ehdollista kuolemattomuutta. Insertti on pysyvästi läsnä hermosolujen esiasteissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

HT22-solut | 305158

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HT22-solut | 305158

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.