

HT22 ląstelės | 305158

Bendra informacija

Description

HT22 ląstelių linija - nemortizuotas subklonas, gautas iš pelių hipokampo HT4 ląstelių - yra labai svarbi atliekant neurofarmakologinius tyrimus. HT22 ląstelės, atsiradusios imortalizuojant pelių neuronų audinius temperatūrai jautriu SV40 T-antigeno, yra unikalūs in vitro modelis tiriant mechanizmus, kuriais grindžiamas glutamato sukeltas citotoksiškumas, kuris vaidina svarbų vaidmenį sergant neurodegeneracinėmis ligomis, pavyzdžiui, Alzheimerio, Huntingtono ir Parkinsono ligomis.

HT22 ląstelės pasižymi neuronų fenotipu ir yra labai jautrios glutamatui - esminiam jaudinančiam neuromediatoriumi, kuris dalyvauja tokiose svarbiausiose smegenų funkcijose kaip pažinimas, mokymasis ir atmintis. Tačiau per didelis glutamato kiekis gali sukelti glutamato toksiškumą ir pernelyg didelį nervinių ląstelių sužadinimą, dėl kurio ląstelės pažeidžiamos arba žūsta, naudojant oksidacinio streso ir apoptozės mechanizmus.

HT22 pelių hipokampo ląstelės naudojamos neurotoksiškumo tyrimuose, pavyzdžiui, tiriant izoflurano poveikį, tiriant chromatinio kraštovaizdį ir epigenetinius požymius, taip pat tiriant serotoninerginio poveikio poveikį hipokampo neurogenezei. Pastarasis tyrimas apima serotoninino reabsorbcijos inhibitorių ir jų vaidmens antidepresantų atrankoje tyrimus, taip pat serotoninino transporterio (SERT) glikozilinimo poveikį neuronų funkcijoms.

HT22 ląstelių linija, pasižyminti gerai apibūdinta reakcija į glutamatą ir naudingumu tiriant serotoninerginę sistemą, ir toliau išlieka vertinga priemone tobulinant neurofarmakologiją ir kuriant įvairių neurologinių sutrikimų gydymo būdus.

Organism Pelė

Tissue Smegenys, hipokampus

Synonyms HT-22

Charakteristikos

Morphology Epitelis

Growth properties Priglundės

Reguliavimo duomenys

Citation HT22 (Cytion katalogo numeris 305158)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

HT22 ląstelės | 305158

CellosaurusAccession CVCL_0321

GMO Status GMO-S1: Šioje pelių hipokampo neuronų ląstelių linijoje (HT22) yra retrovirusinis konstruktas, koduojantis temperatūrai jautrų SV40 T-antigeną ir palaikantis sąlyginę imortalizaciją. Intarpas stabiliai yra neuronų pirmtakų ląstelėse. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpildykite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HT22 ląstelės | 305158

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HT22 ląstelės | 305158

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.