

HL-1 клетки | 305264

Обща информация

Description

HL-1 е клетъчна линия на сърдечния мускул, получена от предсърдни кардиомиоцити на възрастна мишка. Тази клетъчна линия е уникална с това, че запазва способността си да се свива и да поддържа диференциран сърдечен фенотип при дългосрочно култивиране, което я превръща в безценен модел за изследвания в областта на сърдечно-съдовата система. Клетките HL-1 се използват широко в изследвания, фокусирани върху сърдечната физиология, електрофизиология и фармакология. Способността им да претърпяват спонтанни и индуцирани контракции позволява на изследователите да проучват молекулярните механизми, лежащи в основата на функцията на сърдечния мускул, заболяванията и реакцията към терапевтични средства.

Клетките HL-1 проявяват характеристики, типични за клетките на сърдечния мускул, включително експресията на специфични за сърцето маркери като тропонин, миозин и конексин 43. Те реагират на различни физиологични и фармакологични стимули, което позволява подробни изследвания на пътищата за пренос на сигнали в сърцето, функцията на йонните канали и ефектите на лекарствата върху сърдечните клетки. Тази клетъчна линия е особено ценна за моделиране на сърдечни аритмии, хипертрофия и други сърдечни патологии. Освен това HL-1 клетките се използват в тестове за скрининг на лекарства с висока производителност, насочени към идентифициране на съединения, които модулират сърдечната функция, което е от решаващо значение за разработването на нови методи за лечение на сърдечно-съдови заболявания.

Organism

Мишка

Tissue

Сърце, ляво предсърдие

Disease

Нормален предсърден кардиомиоцит (имунологично имунизиран с големия Т-антиген на SV40 чрез линията AT-1; спонтанно се свива; не е туморогенен при стандартна употреба)

Applications

Сърдечна физиология и електрофизиология; биология на кардиомиоцитите; моделиране на сърдечни аритмии; функция на йонните канали (IKr, INa, ICaL); сърдечна хипертрофия и ремоделиране; сърдечна исхемия/увреждане при реперфузия; скрининг за кардиотоксичност на лекарства; биология на конексин 43 и гап-съединения; специфична за предсърдията генна експресия (ANF, α -MHC, α -актин); тестове за спонтанна контрактилност; скрининг на сърдечни лекарства с висока производителност; електрофизиология с мултиелектродна решетка (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Характеристики

Breed/Subspecies

Трансгенни C3HeB/FeJ

Age

Неуточнено

Gender

Жена

HL-1 клетки | 305264

Ethnicity	Неприложимо (трансгенен миши щам C3HeB/FeJ; отгледан в Q)
------------------	---

Morphology	Подобни на кардиомиоцити
-------------------	--------------------------

Cell type	Кардиомиоцити
------------------	---------------

Growth properties	Придържащи се
--------------------------	---------------

Регулаторни данни

Citation	HL-1 (каталожен номер на Cytion 305264)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellSaurusAccession	CVCL_0303
----------------------------	-----------

Биомолекулярни данни

Viruses	Трансформатор: Simian virus 40 (SV40)
----------------	---------------------------------------

Работа с

Culture Medium

Среда на Клейкомб, 2 mM глутамин, 10% FBS, 0,1 mM норепинефрин в L-аскорбинова киселина (Не се предлага за продажба)

Пригответе 0,1 mM норепинефрин в L-аскорбинова киселина:

Пригответе 100-кратен запасен разтвор = 10 mM норепинефрин.

1. Пригответе разтвор от 30 mM L-аскорбинова киселина (50 mL)
2. Добавете 160 mg норепинефрин към разтвора на аскорбинова киселина (50 mL) = 10 mM норепинефрин
3. Стерилно филтрирайте разтвора през 0,2-µm филтърна касета.
4. Напълнете стерилни флакони с аликвоти от 1 mL от 100-кратния основен разтвор на норепинефрин и съхранявайте при -20 °C. Увийте във фолио; трябва да се предпазва от светлина. Разтворът е стабилен за приблизително 1 месец при -20 °C.
5. Добавете 1 mL от този разтвор към 100 mL среда на Клейкомб. Средата е стабилна само за 1 месец.

HL-1 клетки | 305264

Supplements	Добавете към средата 10 % FBS, 2 mM глутамин и 0,1 mM норепинефрин в L-аскорбинова киселина
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	приблизително 24 до 36 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1 до 3
Seeding density	2 до 4 x 10 ⁴ клетки/cm ²
Fluid renewal	Ежедневно (Clauscomb Medium се сменя на всеки 24 часа, за да се поддържа контрактилен фенотип)
Post-Thaw Recovery	След размразяване прехвърлете клетките в колби, покрити с фибронектин и желатин (предварително покрийте с 12,5 µg/ml фибронектин и 0,02% желатин; инкубирайте при 37 °C в продължение на ≥1 час, изсмучете преди засяването). Изчакайте 24–48 часа за прилепване и възстановяване преди първата смяна на средата. След това подхранвайте ежедневно с обогатена среда Clauscomb.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

HL-1 клетки | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Флаконите за клетъчни култури трябва да бъдат покрити с фибронектин и желатин. 25 μg фибронектин, разтворен в 2 ml 0,02% разтвор на желатин във вода, се поставят в T25 и се инкубират през нощта при 37°C

HL-1 клетки | 305264

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.