

Buňky HL-1 | 305264

Obecné informace

Description

HL-1 je buněčná linie srdečního svalu odvozená z atriálních kardiomyocytů dospělé myši. Tato buněčná linie je jedinečná v tom, že si zachovává schopnost kontrakce a udržuje diferencovaný srdeční fenotyp během dlouhodobé kultivace, což z ní činí neocenitelný model pro kardiovaskulární výzkum. Buňky HL-1 jsou široce využívány ve studiích zaměřených na fyziologii srdce, elektrofyziologii a farmakologii. Jejich schopnost spontánních a indukovatelných kontrakcí umožňuje výzkumníkům zkoumat molekulární mechanismy, které jsou základem funkce srdečního svalu, onemocnění a reakce na terapeutické látky.

Buňky HL-1 vykazují vlastnosti typické pro buňky srdečního svalu, včetně exprese pro srdce specifických markerů, jako jsou troponin, myosin a konexin 43. Jsou citlivé na různé fyziologické a farmakologické podněty, což umožňuje detailní studium přenosových cest srdečních signálů, funkce iontových kanálů a účinků léčiv na srdeční buňky. Tato buněčná linie je zvláště cenná pro modelování srdečních arytmií, hypertrofie a dalších srdečních patologií. Kromě toho se buňky HL-1 používají ve vysoce výkonných testech screeningu léčiv zaměřených na identifikaci sloučenin, které modulují srdeční funkci, což je zásadní pro vývoj nových způsobů léčby kardiovaskulárních onemocnění.

Organism

Myš

Tissue

Srdce, levá síň

Disease

Normální síňový kardiomyocyt (imortalizovaný pomocí velkého T-antigenu viru SV40 prostřednictvím linie AT-1; spontánně se stahující; při standardním použití netumorigenní)

Applications

Fyziologie a elektrofyziologie srdce; biologie kardiomyocytů; modelování srdečních arytmií; funkce iontových kanálů (IKr, INa, ICaL); srdeční hypertrofie a remodelace; poškození srdce v důsledku ischemie/reperfúze; screening kardiotoxicity léčiv; biologie konnexinu 43 a mezerových spojů; exprese genů specifických pro síně (ANF, α -MHC, α -aktin); testy spontánní kontraktility; vysoce výkonné screeningové testy kardiologických léčiv; elektrofyziologie s využitím multi-elektrodového pole (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Charakteristika

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgenní

Age

Nespecifikováno

Gender

Ženy

Ethnicity

Neplatí (transgenní kmen myší C3HeB/FeJ; chov v Q)

Morphology

podobné kardiomyocytům

Buňky HL-1 | 305264

Cell type	Kardiomyocyty
-----------	---------------

Growth properties	Adherentní
-------------------	------------

Regulační údaje

Citation	HL-1 (katalogové číslo Cytion 305264)
----------	---------------------------------------

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

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

CellosaurusAccession	CVCL_0303
----------------------	-----------

Biomolekulární data

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

Zpracování

Culture Medium	Claycombovo médium, 2 mM glutaminu, 10 % FBS, 0,1 mM norepinefrinu v kyselině L-askorbové (neprodáváme) Připravte 0,1 mM norepinefrinu v kyselině L-askorbové: Připravte 100násobný zásobní roztok = 10 mM norepinefrinu. 1. Připravte 30 mM roztok kyseliny L-askorbové (50 ml) 2. Do roztoku kyseliny askorbové (50 ml) přidejte 160 mg norepinefrinu = 10 mM norepinefrinu 3. Roztok sterilně přefiltrujte přes 0,2-μm filtrační vložku. 4. Naplňte 1 ml alikvotů 100násobného zásobního roztoku norepinefrinu do sterilních lahvíček a skladujte při teplotě -20°C. Zabalte do hliníkové fólie; musí být chráněno před světlem. Roztok je stabilní přibližně 1 měsíc při teplotě -20°C. 5. Do 100 ml Claycombova média přidejte 1 ml tohoto roztoku. Médium je stabilní pouze po dobu 1 měsíce.
----------------	---

Supplements	Do média přidejte 10 % FBS, 2 mM glutaminu a 0,1 mM norepinefrinu v kyselině L-askorbové
-------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Buňky HL-1 | 305264**Doubling time** přibližně 24 až 36 hodin

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio 1 až 3

Seeding density 2 až 4×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal Denně (Claycomb Medium se vyměňuje každých 24 hodin za účelem zachování kontraktálního fenotypu)

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení buňky naočkujte do lahví potažených fibronektinem a želatinou (předem potřete 12,5 µg/ml fibronektinu a 0,02 % želatinou; inkubujte při 37 °C po dobu ≥ 1 hodiny, před naočkováním odsajte). Před první výměnou média nechte buňky 24–48 hodin přilnout a zotavit se. Poté je denně doplňujte obohaceným Claycombovým médiem.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HL-1 | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Lahve pro buněčné kultury musí být potaženy fibronektinem a želatinou. Do lahve T25 se přidá 25 µg fibronektinu rozpuštěného ve 2 ml 0,02% roztoku želatiny ve vodě a inkubuje se přes noc při teplotě 37 °C.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Buňky HL-1 | 305264

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.