

HL-1-celler | 305264

Generel information

Description

HL-1 er en hjertemuskelcellelinje, der stammer fra forkammerkardiomyocytter fra en voksen mus. Denne cellelinje er unik, idet den bevarer evnen til at trække sig sammen og opretholde en differentieret hjertefenotype under langvarig dyrkning, hvilket gør den til en uvurderlig model for kardiovaskulær forskning. HL-1-celler anvendes i vid udstrækning i studier med fokus på hjertefysiologi, elektrofysiologi og farmakologi. Deres evne til at gennemgå spontane og inducerbare sammentrækninger giver forskerne mulighed for at undersøge de molekulære mekanismer, der ligger til grund for hjertemuskelfunktion, sygdom og respons på terapeutiske midler.

HL-1-celler udviser egenskaber, der er typiske for hjertemuskelceller, herunder ekspresion af hjertespecifikke markører såsom troponin, myosin og connexin 43. De reagerer på forskellige fysiologiske og farmakologiske stimuli, hvilket muliggør detaljerede undersøgelser af hjertets signaltransduktionsveje, ionkanalfunktion og lægemidlers virkning på hjerteceller. Denne cellelinje er særligt værdifuld til modellering af hjertearytmier, hypertrofi og andre hjertepatologier. Derudover anvendes HL-1-celler i højkapacitets-lægemiddelscreeningsforsøg med det formål at identificere forbindelser, der modulerer hjertefunktionen, hvilket er afgørende for udviklingen af nye behandlinger mod hjerte-kar-sygdomme.

Organism

Mus

Tissue

Hjerte, venstre forkammer

Disease

Normal forkammer-kardiomyocyt (immortaliseret med SV40-stort T-antigen via AT-1-stammen; kontraherer spontant; ikke-tumorigen ved normal anvendelse)

Applications

Hjertefysiologi og elektrofysiologi; kardiomyocytbiologi; modellering af hjertearytmier; ionkanalfunktion (IKr, INa, ICaL); hjertehypertrofi og remodellering; hjerteiskæmi/reperfusionsskade; screening for lægemiddelkardiotoksicitet; connexin43 og gap junction-biologi; atriespecifik genekspresion (ANF, α -MHC, α -aktin); analyser af spontan kontraktilitet; højkapacitetscreening af hjerteaktiva; elektrofysiologi ved hjælp af multi-elektrode-array (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Karakteristika

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgen

Age

Uspecificeret

Gender

Kvinde

Ethnicity

Ikke relevant (C3HeB/FeJ-transgen musestamme; opdrættet i Q)

HL-1-celler | 305264**Morphology** Kardiomyocytlignende**Cell type** Kardiomyocyt**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** HL-1 (Cytion-katalognummer 305264)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0303**Biomolekylære data****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Håndtering****Culture Medium**

Claycomb-medium, 2 mM glutamin, 10 % FBS, 0,1 mM noradrenalin i L-ascorbinsyre (Vi forhandler ikke dette produkt)

Fremstil 0,1 mM noradrenalin i L-ascorbinsyre:

Fremstil en 100-foldig stamopløsning = 10 mM noradrenalin.

1. Fremstil en 30 mM L-ascorbinsyreopløsning (50 mL)
2. Tilsæt 160 mg noradrenalin til ascorbinsyreopløsningen (50 mL) = 10 mM noradrenalin
3. Filtrer opløsningen sterilt gennem et 0,2 µm filterpatron.
4. Hæld 1-mL-aliquoter af den 100-foldige norepinefrin-stamopløsning i sterile hætteglas og opbevar ved -20 °C. Indpak i aluminiumsfolie; skal beskyttes mod lys. Opløsningen er stabil i ca. 1 måned ved -20 °C.
5. Tilsæt 1 mL af denne opløsning til 100 mL Claycomb-medium. Mediet er kun stabilt i 1 måned.

Supplements Tilføj 10 % FBS, 2 mM glutamin og 0,1 mM noradrenalin til mediet i L-ascorbinsyre

HL-1-celler | 305264**Dissociation Reagent**

Accutase

Doubling time ca. 24 til 36 timer**Subculturing**

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Split ratio 1 til 3**Seeding density**2 til 4×10^4 celler/cm²**Fluid renewal**

Dagligt (Claycomb Medium udskiftes hver 24. time for at opretholde den kontraktile fænotype)

Post-Thaw Recovery

Efter optøning udplades cellerne på kolber, der er belagt med fibronektin og gelatine (forbelæg med 12,5 µg/ml fibronektin og 0,02 % gelatine; inkuber ved 37 °C i mindst 1 time, sug væsken fra inden udpladning). Lad cellerne hæfte og komme sig i 24-48 timer, før det første medieskift foretages. Tilfør derefter dagligt suppleret Claycomb-medium.

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HL-1-celler | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Cellekulturflaskerne skal belægges med fibronektin og gelatine. 25 µg fibronektin, opløst i 2 ml 0,02 % gelatine i vand, hældes i en T25-flaske og inkuberes natten over ved 37 °C

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

HL-1-celler | 305264

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.