Product sheet

Κύτταρα HL-1 | 305264

Γενικές πληροφορίες

Description	Η HL-1 είναι μια κυτταρική σειρά καρδιακού μυός που προέρχεται από τα κολπικά καρδιομυοκύτταρα ενός ενήλικου ποντικιού. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι μοναδική, καθώς διατηρεί την ικανότητα να συστέλλεται και να διατηρεί έναν διαφοροποιημένο καρδιακό φαινότυπο κατά τη διάρκεια μακροχρόνιας καλλιέργειας, γεγονός που την καθιστά ένα ανεκτίμητο μοντέλο για την καρδιαγγειακή έρευνα. Τα κύτταρα HL-1 χρησιμοποιούνται ευρέως σε μελέτες που εστιάζουν στην καρδιακή φυσιολογία, την ηλεκτροφυσιολογία και τη φαρμακολογία. Η ικανότητά τους να υφίστανται αυθόρμητες και επαγόμενες συστολές επιτρέπει στους ερευνητές να διερευνήσουν τους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν τη λειτουργία του καρδιακού μυός, τις παθήσεις και την απόκριση σε θεραπευτικά μέσα. Τα κύτταρα HL-1 παρουσιάζουν χαρακτηριστικά τυπικά των καρδιακών μυϊκών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης καρδιακών ειδικών δεικτών όπως η τροπονίνη, η μυοσίνη και η κοννεξίνη 43. Ανταποκρίνονται σε διάφορα φυσιολογικά και φαρμακολογικά ερεθίσματα, επιτρέποντας λεπτομερείς μελέτες των οδών μεταγωγής καρδιακών σημάτων, της λειτουργίας των ιοντικών διαύλων και των επιδράσεων των φαρμάκων στα καρδιακά κύτταρα. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για τη μοντελοποίηση καρδιακών αρρυθμιών, υπερτροφίας και άλλων καρδιακών παθολογιών. Επιπλέον, τα κύτταρα HL-1 χρησιμοποιούνται σε δοκιμασίες διαλογής φαρμάκων υψηλής απόδοσης με στόχο τον εντοπισμό ενώσεων που ρυθμίζουν την καρδιακή λειτουργία, κάτι που είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη νέων θεραπειών για καρδιαγγειακές παθήσεις.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Καρδιά, αριστερός κόλπος
Disease	Φυσιολογικό καρδιομυοκύτταρο του κόλπου (αθανατοποιημένο με το μεγάλο αντιγόνο T του SV40 μέσω της σειράς AT-1· με αυθόρμητη συστολή· μη ογκογόνο υπό κανονικές συνθήκες χρήσης)
Applications	Καρδιακή φυσιολογία και ηλεκτροφυσιολογία· βιολογία των καρδιομυοκυττάρων· μοντελοποίηση καρδιακών αρρυθμιών· λειτουργία ιοντικών διαύλων (IKr, INa, ICaL)· καρδιακή υπερτροφία και αναδιαμόρφωση· καρδιακή ισχαιμία/βλάβη από επαναναιμάτωση· έλεγχος καρδιοτοξικότητας φαρμάκων· βιολογία της κοννεξίνης 43 και των διακλαδώσεων· έκφραση γονιδίων ειδικών για τους κόλπους (ANF, α-MHC, α-ακτίνη)· δοκιμασίες αυθόρμητης συσταλτικότητας· διαλογή καρδιακών φαρμάκων υψηλής απόδοσης· ηλεκτροφυσιολογία με συστοιχία πολλαπλών ηλεκτροδίων (MEA)
Synonyms	HL1, HL-1 F2 P76

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	C3HeB/FeJ διαγονιδιακά
Age	Απροσδιόριστο
Gender	Γυναίκα

Κύτταρα HL-1 | 305264

Ethnicity	Δεν ισχύει (στέλεχος διαγονιδιακών ποντικών C3HeB/FeJ· αναπαραγωγή στο Q)
Morphology	Τύπου καρδιομυοκυττάρου
Cell type	Καρδιομυοκύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HL-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305264)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0303

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses	Μετασχηματιστής: Simian virus 40 (SV40)

Χειρισμός

Culture Medium	Μέσο Claycomb, 2 mM γλουταμίνη, 10% FBS, 0,1 mM νορεπινεφρίνη σε L-ασκορβικό οξύ (Δεν διατίθεται προς πώληση) Παρασκευάστε 0,1 mM νορεπινεφρίνη σε L-ασκορβικό οξύ: Παρασκευάστε ένα 100-πλάσιο διάλυμα βάσης = 10 mM νορεπινεφρίνη. 1. Παρασκευάστε διάλυμα L-ασκορβικού οξέος 30 mM (50 mL) 2. Προσθέστε 160 mg νορεπινεφρίνης στο διάλυμα ασκορβικού οξέος (50 mL) = 10 mM νορεπινεφρίνης 3. Φιλτράρετε αποστειρωμένα το διάλυμα μέσω φίλτρου 0,2 μm. 4. Γεμίστε αλικότες των 1 mL του 100-πλάσιου διαλύματος-βάσης νορεπινεφρίνης σε αποστειρωμένα φιαλίδια και αποθηκεύστε τα στους −20 °C. Τυλίξτε τα με αλουμινόχαρτο· πρέπει να προστατεύονται από το φως. Το διάλυμα είναι σταθερό για περίπου 1 μήνα στους −20 °C. 5. Προσθέστε 1 mL αυτού του διαλύματος σε 100 mL μέσου Claycomb. Το μέσο είναι σταθερό μόνο για 1 μήνα.

Κύτταρα HL-1 | 305264

Supplements	Προσθέστε στο μέσο 10% FBS, 2 mM γλουταμίνη, 0,1 mM νορεπινεφρίνη σε L-ασκορβικό οξύ
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	περίπου 24 έως 36 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	1 έως 3
Seeding density	2 έως 4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	Καθημερινά (το μέσο Claycomb αντικαθίσταται κάθε 24 ώρες για τη διατήρηση του συσταλτικού φαινοτύπου)
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, μεταφέρετε τα κύτταρα σε φιάλες επικαλυμμένες με ινονεκτίνη/ζελατίνη (προεπικαλύψτε με 12,5 μg/ml ινονεκτίνης και 0,02% ζελατίνης· επωάστε στους 37°C για ≥1 ώρα, αναρροφήστε το υγρό πριν από τη σπορά). Αφήστε τα κύτταρα να προσκολληθούν και να αναρρώσουν για 24–48 ώρες πριν από την πρώτη αλλαγή του θρεπτικού μέσου. Στη συνέχεια, τροφοδοτείτε τα καθημερινά με συμπληρωμένο θρεπτικό μέσο Claycomb.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HL-1 | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Τα φιαλίδια κυτταροκαλλιέργειας πρέπει να επικαλυφθούν με ινονεκτίνη και ζελατίνη. 25 μg ινονεκτίνης, διαλυμένα σε 2 ml διαλύματος ζελατίνης 0,02% σε νερό, τοποθετούνται σε φιαλίδιο T25 και επωάζονται όλη τη νύχτα στους 37 °C

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HL-1 | 305264

Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.