

HL-1-rakud | 305264

Üldine teave

Description

HL-1 on südamelihaskude liin, mis on saadud täiskasvanud hiire vatsakambri kardiomyotsüütidest. See rakuliin on ainulaadne selle poolest, et säilitab pikaajalise kultiveerimise käigus võime kokku tõmbuda ja säilitada diferentseeritud südamefenotüübi, mis teeb sellest hindamatu mudeli kardiovaskulaarsete uuringute jaoks. HL-1 rakke kasutatakse laialdaselt uuringutes, mis keskenduvad südame füsioloogiale, elektrofüsioloogiale ja farmakoloogiale. Nende võime läbida spontaanseid ja indutseeritavaid kokkutõmbeid võimaldab teadlastel uurida molekulaarseid mehhanisme, mis on aluseks südamelihase funktsioonile, haigustele ja ravimite toimele.

HL-1-rakud ilmutavad südamelihaskudele iseloomulikke omadusi, sealhulgas südamespetsiifiliste markerite, nagu troponiini, müosiini ja konneksiini 43, ekspressiooni. Need reageerivad mitmesugustele füsioloogilistele ja farmakoloogilistele stiimulitele, võimaldades põhjalikult uurida südame signaaliülekande radu, ioonikanalite funktsiooni ja ravimite mõju südamerakkudele. See rakuliin on eriti väärtuslik südamerütmihäirete, hüpertroofia ja muude südamehaiguste modelleerimiseks. Lisaks kasutatakse HL-1 rakke suure läbilaskevõimega ravimite sõelumiskatsetes, mille eesmärk on tuvastada ühendeid, mis mõjutavad südame funktsiooni, mis on otsustava tähtsusega uute südame-veresoonkonna haiguste ravimeetodite väljatöötamisel.

Organism

Hiir

Tissue

Süda, vasak eelkamber

Disease

Normaalne vatsakambri kardiomyotsüüt (SV40 suure T-antigeeni abil AT-1 liini kaudu surematuks muudetud; spontaanselt kokkutõmbuv; tavapärase kasutuse korral mittetumorigeenne)

Applications

Südame füsioloogia ja elektrofüsioloogia; kardiomyotsüütide bioloogia; südamerütmihäirete modelleerimine; ioonikanalite funktsioon (IKr, INa, ICaL); südame hüpertroofia ja remodelleerumine; südame isheemia/reperfusioonikahjustus; ravimite kardiotoksilisuse sõelumine; konneksiin43 ja lümkühenduste bioloogia; eelkambrispetsiifiline geeniekspressioon (ANF, α -MHC, α -aktin); spontaanse kontraktiilsuse analüüsid; südameravimite suure läbilaskevõimega sõelumine; mitme elektroodi massiivi (MEA) elektrofüsioloogia

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Omadused

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgeenne

Age

Täpsustamata

Gender

Naised

Ethnicity

Ei kohaldata (C3HeB/FeJ transgeenne hiiretõug; aretatud Q-s)

HL-1-rakud | 305264

Morphology	Kardiomüotsüütidele sarnane
-------------------	-----------------------------

Cell type	Kardiomüotsüüdid
------------------	------------------

Growth properties	Kinnipeetav
--------------------------	-------------

Regulatiivsed andmed

Citation	HL-1 (Cytioni katalooginumber 305264)
-----------------	---------------------------------------

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

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

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

Biomolekulaarsed andmed

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

Töötlemine

Culture Medium	Claycombi kasvukeskkond, 2 mM glutamiini, 10% FBS, 0,1 mM norepinefriini L-askorbiinhappes (me ei müü seda) Valmistage 0,1 mM norepinefriini lahus L-askorbiinhappes: Valmistage 100-kordne kontsentraatlahus = 10 mM norepinefriin. 1. Valmistage 30 mM L-askorbiinhappe lahus (50 ml) 2. Lisage 160 mg norepinefriini askorbiinhappe lahusele (50 ml) = 10 mM norepinefriini 3. Filtreerige lahus steriilselt läbi 0,2 µm filtrikasseti. 4. Täitke 1 ml alikvoote 100-kordsest norepinefriini kontsentratsioonist steriilsetesse viaalidesse ja hoidke neid -20 °C juures. Mähkige alumiiniumfooliumisse; tuleb kaitsta valguse eest. Lahus on stabiilne umbes 1 kuu jooksul -20 °C juures. 5. Lisage 1 ml seda lahust 100 ml Claycombi kasvukeskkonnale. Kasvukeskkond on stabiilne vaid 1 kuu.
-----------------------	---

Supplements	Lisage kasvukeskkonnale 10% FBS-i, 2 mM glutamiini ja 0,1 mM norepinefriini L-askorbiinhappes
--------------------	---

HL-1-rakud | 305264

Dissociation Reagent Accutase**Doubling time** umbes 24–36 tundi

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio 1–3**Seeding density** 2 kuni 4×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** Iga päev (Claycombi keskkonda vahetatakse iga 24 tunni järel, et säilitada kontraktiilne fenotüüp)

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist külvake rakud fibronectiini ja želatiiniga kaetud kolvidesse (katke eelnevalt 12,5 µg/ml fibronectiini ja 0,02% želatiiniga; inkubeerige 37 °C juures vähemalt 1 tund, eemaldage vedelik enne külvamist). Enne esimest keskkonna vahetust oodake 24–48 tundi, et rakud kinnituksid ja taastuksid. Seejärel toidke rakke iga päev täiendatud Claycomb-keskkonnaga.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HL-1-rakud | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Rakukultuuri pudelid tuleb katta fibronectiini ja želatiiniga. 25 µg fibronectiini, mis on lahustatud 2 ml vees lahustatud 0,02% želatiini lahuses, valatakse T25-pudellisse ja inkubeeritakse üleöö 37 °C juures.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

HL-1-rakud | 305264

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.