

HL-1-solut | 305264

Yleisiä tietoja

Description

HL-1 on sydänlihassolulinja, joka on peräisin aikuisen hiiren eteisen sydänlihassoluista. Tämä solulinja on ainutlaatuinen, sillä se säilyttää kykynsä supistua ja ylläpitää erilaistunutta sydänfenotyyppiä pitkäaikaisessa viljelyssä, mikä tekee siitä korvaamattoman mallin sydän- ja verisuonitutkimukselle. HL-1-soluja käytetään laajalti sydämen fysiologiaan, elektrofysiologiaan ja farmakologiaan keskittyvissä tutkimuksissa. Niiden kyky spontaaneihin ja indusoitaviin supistuksiin antaa tutkijoille mahdollisuuden selvittää sydänlihaksen toiminnan, sairauksien ja hoitokeinoinhin reagoinnin taustalla olevia molekyylimekanismeja.

HL-1-soluilla on sydänlihassoluille tyypillisiä ominaisuuksia, mukaan lukien sydämen spesifisten merkkiaineiden, kuten troponiinin, myosiinin ja konneksiini 43:n, ilmentyminen. Ne reagoivat erilaisiin fysiologisiin ja farmakologisiin ärsykkeisiin, mikä mahdollistaa sydämen signaalsiirtoreittien, ionikanavien toiminnan sekä lääkkeiden vaikutusten sydänsoluihin koskevat yksityiskohtaiset tutkimukset. Tämä solulinja on erityisen arvokas sydämen rytmihäiriöiden, hypertrofian ja muiden sydänsairauksien mallintamisessa. Lisäksi HL-1-soluja käytetään suurikapasiteettisissa lääkeaineiden seulontatesteissä, joiden tarkoituksena on tunnistaa sydämen toimintaa sääteleviä yhdisteitä, mikä on ratkaisevan tärkeää uusien sydän- ja verisuonitautien hoitomuotojen kehittämiseksi.

Organism

Hiiri

Tissue

Sydän, vasen eteinen

Disease

Normaali eteisen sydänlihassolu (SV40-viruksen suuri T-antigeeni on tehnyt solusta kuolemattoman AT-1-sukulinjan kautta; supistuu spontaanisti; ei aiheuta kasvaimia tavanomaisessa käytössä)

Applications

Sydämen fysiologia ja elektrofysiologia; sydänlihassolujen biologia; sydämen rytmihäiriöiden mallintaminen; ionikanavien toiminta (IKr, INa, ICaL); sydämen hypertrofia ja remodeloituminen; sydämen iskemia-/reperfuusioaurio; lääkkeiden kardiotoxisuuden seulonta; konneksiini 43:n ja gap-liitosten biologia; eteiskohtainen geeniekspressio (ANF, α -MHC, α -aktin); spontaanin supistuvuuden määritykset; sydänlääkkeiden suurikapasiteettinen seulonta; monielektrodijärjestelmän (MEA) elektrofysiologia

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ-siirtogeeninen

Age

Määrittelemätön

Gender

Nainen

Ethnicity

Ei sovelleta (C3HeB/FeJ-transgeeninen hiirikanta; kasvatettu Q:ssa)

HL-1-solut | 305264

Morphology	Kardiomyosyyttien kaltaiset
-------------------	-----------------------------

Cell type	Kardiomyosyytti
------------------	-----------------

Growth properties	Tarttuva
--------------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	HL-1 (Cytionin tuotenumero 305264)
-----------------	------------------------------------

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

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

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

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium

Claycomb-kasvatusliuos, 2 mM glutamiinia, 10 % FBS:ää, 0,1 mM norepinefriiniä L-askorbiinihapossa (Emme myy tätä tuotetta)

Valmista 0,1 mM norepinefriiniä L-askorbiinihapossa:

Valmista 100-kertainen kantaliuos = 10 mM norepinefriiniä.

1. Valmista 30 mM:n L-askorbiinihappoliuos (50 ml)
2. Lisää 160 mg norepinefriiniä askorbiinihappoliuokseen (50 ml) = 10 mM norepinefriiniä
3. Suodata liuos steriilisti 0,2 µm:n suodatinpatruunan läpi.
4. Täytä 1 ml:n alikvootit 100-kertaisesta norepinefriinin kantaliuoksesta steriileihin pulloihin ja säilytä -20 °C:ssa. Kääri alumiinifolioon; liuos on suojattava valolta. Liuos on stabiili noin 1 kuukauden ajan -20 °C:ssa.
5. Lisää 1 ml tätä liuosta 100 ml:aan Claycomb-kasvatusainetta. Kasvatusaine on stabiili vain yhden kuukauden ajan.

Supplements	Lisää elatusaineeseen 10 % FBS:ää, 2 mM glutamiinia ja 0,1 mM norepinefriiniä L-askorbiinihapossa
--------------------	---

HL-1-solut | 305264

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time noin 24–36 tuntia**Subculturing**

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Split ratio 1–3**Seeding density** $2-4 \times 10^4$ solua/cm²**Fluid renewal**

Päivittäin (Claycomb Medium vaihdetaan 24 tunnin välein supistumiskykyisen fenotyypin ylläpitämiseksi)

Post-Thaw Recovery

Sulatuksen jälkeen solut siirretään fibronectiinillä ja gelatiinilla päällystettyihin pulloihin (päällystetään etukäteen 12,5 µg/ml fibronectiinillä ja 0,02 % gelatiinilla; inkuboidaan 37 °C:ssa vähintään 1 tunti, imetään neste pois ennen solujen kylvämistä). Anna solujen kiinnittyä ja toipua 24–48 tuntia ennen ensimmäistä elatusaineen vaihtoa. Lisää sen jälkeen päivittäin ravintoa täydennetyllä Claycomb-elatusaineella.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HL-1-solut | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Soluviljelypullot on päällystettävä fibronectiinillä ja gelatiinilla. 25 µg fibronectiiniä, liuotettuna 2 ml:aan 0,02-prosenttista gelatiiniliuosta vedessä, laitetaan T25-pulloon ja inkuboidaan yön yli 37 °C:ssa.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 -- 196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

HL-1-solut | 305264

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.