

HL-1 sejtek | 305264

Általános információk

Description

A HL-1 egy felnőtt egér pitvari szívizomsejtjeiből származó szívizomsejt-vonal. Ez a sejtvonal abban az értelemben egyedülálló, hogy hosszú távú tenyésztés során is megőrzi összehúzóási képességét és differenciált szívfenotípusát, ami felbecsülhetetlen értékű modellt tesz a kardiovaszkuláris kutatások számára. Az HL-1 sejteket széles körben használják a szívfiziológiára, az elektrofiziológiára és a farmakológiára összpontosító kutatásokban. Az a képességük, hogy spontán és indukálható összehúzóásokat hajtsanak végre, lehetővé teszi a kutatók számára, hogy vizsgálják a szívizom működésének, a betegségeknek és a terápiás szerekre adott reakciónak az alapjául szolgáló molekuláris mechanizmusokat.

Az HL-1 sejtek a szívizomsejtekre jellemző tulajdonságokat mutatnak, ideértve a szívspecifikus markerek – például a troponin, a miozin és a connexin 43 – expresszióját is. Különböző fiziológiai és farmakológiai ingerekre reagálnak, ami lehetővé teszi a szív jelátviteli útvonalainak, az ioncsatornák működésének, valamint a gyógyszerek szívsejtekre gyakorolt hatásainak részletes vizsgálatát. Ez a sejtvonal különösen értékes a szívritmuszavarok, a hipertrófia és más szívbetegségek modellezéséhez. Ezen felül a HL-1 sejteket nagy áteresztőképességű gyógyszeresűrő vizsgálatokban is alkalmazzák olyan vegyületek azonosítására, amelyek modulálják a szív működését, ami elengedhetetlen a szív- és érrendszeri betegségek új kezelési módszereinek kifejlesztéséhez.

Organism

Egér

Tissue

Szív, bal pitvar

Disease

Normál pitvari szívizomsejt (SV40 nagy T-antigénnel halhatatlanná tett az AT-1 vonalon keresztül; spontán összehúzó; szokásos használat mellett nem tumorigenikus)

Applications

Szívfiziológia és elektrofiziológia; szívizomsejt-biológia; szívritmuszavarok modellezése; ioncsatorna-funkció (IKr, INa, I_{CaL}); szívhipertrófia és -remodelláció; szívishémia/reperfúziós károsodás; gyógyszeres kardiotoxicitás szűrése; connexin43 és gap junction biológia; pitvar-specifikus génexpresszió (ANF, α -MHC, α -aktin); spontán kontraktilitási vizsgálatok; nagy áteresztőképességű szívgyógyszer-szűrés; többelektródás rendszer (MEA) elektrofiziológiája

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Jellemzők

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transzgenikus

Age

Meghatározatlan

Gender

Női

Ethnicity

Nem alkalmazható (C3HeB/FeJ transzgenikus egér vonal; tenyésztés a Q-ban)

HL-1 sejtek | 305264

Morphology	Kardiomiocita-szerű
Cell type	Kardiomyocita
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	HL-1 (Cytion katalógusszám: 305264)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0303

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium	Claycomb-tápközeg, 2 mM glutamin, 10% FBS, 0,1 mM norepinefrin L-aszkorbinsavban (Ezt a terméket nem forgalmazzuk) Készítsen elő 0,1 mM norepinefrint L-aszkorbinsavban: Készítsen 100-szoros koncentrációjú törzsoldatot = 10 mM norepinefrin. 1. Készítsen 30 mM-es L-aszkorbinsav-oldatot (50 mL) 2. Adjon hozzá 160 mg norepinefrint az aszkorbinsav-oldathoz (50 mL) = 10 mM norepinefrin 3. Szteril módon szűrje át az oldatot egy 0,2 µm-es szűrőpatronon. 4. Töltsön 1 mL-es alikvotokat a 100-szeres norepinefrin-tartalékoldatból steril fiolákba, és tárolja -20 °C-on. Csomagolja be alumíniumfóliába; fénytől védeni kell. Az oldat -20 °C-on körülbelül 1 hónapig stabil. 5. Adjunk 1 mL-t ebből az oldatból 100 mL Claycomb-tápközeghez. A tápközeg csak 1 hónapig stabil.
Supplements	A tápközeget egészítsük ki 10%-os FBS-sel, 2 mM glutaminnal és 0,1 mM norepinefrinnel L-aszkorbinsavban

HL-1 sejtek | 305264

Dissociation Reagent Accutase**Doubling time** kb. 24–36 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuspendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1–3**Seeding density** $2-4 \times 10^4$ sejt/cm²**Fluid renewal** Naponta (a Claycomb Medium-ot 24 óránként cserélik a kontraktilis fenotípus fenntartása érdekében)

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után a sejteket fibronectinnel és zselatinnal bevont lombikokba ültessük át (előzetesen vonjuk be 12,5 µg/ml fibronectinnel és 0,02%-os zselatinnal; inkubáljuk 37 °C-on legalább 1 órán át, majd a beültetés előtt szívjuk le a folyadékot). Az első tápközeg-csere előtt hagyjon 24–48 órát a sejtek tapadására és regenerálódására. Ezt követően naponta táplálja a sejteket kiegészített Claycomb-tápközeggel.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HL-1 sejtek | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuspenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A sejt kultúra-palackokat fibronektinnel és zselatinnal kell bevonni. $25\ \mu\text{g}$ fibronektint, amelyet 2 ml 0,02%-os vizes zselatinoldatban oldottunk fel, egy T25-ös palackba helyezünk, és egy éjszakán át 37°C -on inkubáljuk.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HL-1 sejtek | 305264

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.