

Cellule HL-1 | 305264

Informazioni generali

Description

HL-1 è una linea cellulare di muscolo cardiaco derivata dai cardiomiociti atriali di un topo adulto. Questa linea cellulare è unica in quanto conserva la capacità di contrarsi e di mantenere un fenotipo cardiaco differenziato in coltura a lungo termine, il che la rende un modello prezioso per la ricerca cardiovascolare. Le cellule HL-1 sono ampiamente utilizzate negli studi di fisiologia, elettrofisiologia e farmacologia cardiaca. La loro capacità di subire contrazioni spontanee e inducibili consente ai ricercatori di studiare i meccanismi molecolari alla base della funzione del muscolo cardiaco, delle malattie e della risposta agli agenti terapeutici.

Le cellule HL-1 presentano caratteristiche tipiche delle cellule muscolari cardiache, tra cui l'espressione di marcatori specifici per il muscolo cardiaco, come la troponina, la miosina e la connexina 43. Sono reattive a vari tipi di fisiologia e a diversi tipi di agenti terapeutici. Sono reattive a vari stimoli fisiologici e farmacologici, consentendo studi dettagliati delle vie di trasduzione del segnale cardiaco, della funzione dei canali ionici e degli effetti dei farmaci sulle cellule cardiache. Questa linea cellulare è particolarmente preziosa per la modellazione di aritmie cardiache, ipertrofia e altre patologie cardiache. Inoltre, le cellule HL-1 sono utilizzate in saggi di screening farmacologico ad alto rendimento per identificare composti che modulano la funzione cardiaca, il che è fondamentale per lo sviluppo di nuovi trattamenti per le malattie cardiovascolari.

Organism

Mouse

Tissue

Cuore, atrio sinistro

Disease

Cardiomiocita atriale normale (immortalizzato tramite l'antigene T grande dell'SV40 attraverso il ceppo AT-1; a contrazione spontanea; non tumorigenico in condizioni d'uso standard)

Applications

Fisiologia ed elettrofisiologia cardiaca; biologia dei cardiomiociti; modellizzazione delle aritmie cardiache; funzione dei canali ionici (IKr, INa, I_{CaL}); ipertrofia e rimodellamento cardiaco; danno da ischemia/riperfusion cardiaca; screening della cardiotossicità dei farmaci; biologia della connexina 43 e delle giunzioni comunicanti; espressione genica specifica dell'atrio (ANF, α -MHC, α -actina); test di contrattilità spontanea; screening farmacologico cardiaco ad alta produttività; elettrofisiologia con array multi-elettrodo (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Caratteristiche

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgenico

Age

Non specificato

Gender

Donna

Ethnicity

Non applicabile (ceppo di topi transgenici C3HeB/FeJ; allevati in Q)

Cellule HL-1 | 305264

Morphology	Simile ai cardiomiociti
-------------------	-------------------------

Cell type	Cardiomiocita
------------------	---------------

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	HL-1 (numero di catalogo Cytion 305264)
-----------------	---

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

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

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

Dati biomolecolari

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

Manipolazione**Culture Medium**

Terreno di coltura Claycomb, 2 mM di glutammina, 10% di FBS, 0,1 mM di noradrenalina in acido L-ascorbico (non in vendita)

Preparare 0,1 mM di noradrenalina in acido L-ascorbico:

Preparare una soluzione madre 100 volte più concentrata = 10 mM di noradrenalina.

1. Preparare una soluzione di acido L-ascorbico a 30 mM (50 mL)
2. Aggiungere 160 mg di noradrenalina alla soluzione di acido ascorbico (50 mL) = 10 mM di noradrenalina
3. Filtrare la soluzione in condizioni asettiche attraverso una cartuccia filtrante da 0,2 µm.
4. Versare aliquote da 1 mL della soluzione madre di noradrenalina 100 volte concentrata in fiale sterili e conservare a -20 °C. Avvolgere in un foglio di alluminio; deve essere protetta dalla luce. La soluzione è stabile per circa 1 mese a -20 °C.
5. Aggiungere 1 mL di questa soluzione a 100 mL di terreno di coltura Claycomb. Il terreno è stabile solo per 1 mese.

Cellule HL-1 | 305264

Supplements Aggiungere al terreno di coltura il 10% di FBS, 2 mM di glutammina, 0,1 mM di noradrenalina in acido L-ascorbico

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time circa da 24 a 36 ore

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio da 1 a 3

Seeding density Da 2 a 4×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal Giornalmente (Claycomb Medium sostituito ogni 24 ore per mantenere il fenotipo contrattile)

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, seminare le cellule in fiasche rivestite con fibronectina/gelatina (rivestire preventivamente con 12,5 µg/ml di fibronectina e 0,02% di gelatina; incubare a 37 °C per ≥1 ora, aspirare il liquido prima della semina). Attendere 24-48 ore per consentire l'adesione e il recupero delle cellule prima del primo cambio di terreno di coltura. Successivamente, alimentare quotidianamente con terreno di coltura Claycomb integrato.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule HL-1 | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Le fiasche per coltura cellulare devono essere rivestite con fibronectina e gelatina. Si versano 25 µg di fibronectina, disciolti in 2 ml di gelatina allo 0,02% in acqua, in una fiasca T25 e si incuba per una notte a 37 °C.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HL-1 | 305264

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.