

HL-1 ląstelės | 305264

Bendra informacija

Description

HL-1 – tai širdies raumens ląstelių linija, gauta iš suaugusios pelės prieširdžių kardiomiocitų. Ši ląstelių linija išsiskiria tuo, kad ilgalaikio kultivavimo metu išlaiko gebėjimą susitraukti ir išlaikyti diferencijuotą širdies fenotipą, todėl ji yra neįkainojamas modelis širdies ir kraujagyslių tyrimams. HL-1 ląstelės plačiai naudojamos tyrimuose, susijusiuose su širdies fiziologija, elektrofiziologija ir farmakologija. Jų gebėjimas spontaniškai ir indukuojamai susitraukti leidžia mokslininkams tirti molekulinis mechanizmus, lemiančius širdies raumens funkciją, ligas ir reakciją į terapinius preparatus.

HL-1 ląstelės pasižymi širdies raumens ląstelėms būdingomis savybėmis, įskaitant širdžiai būdingų žymenų, tokių kaip troponinas, miozinas ir koneksinas 43, ekspresiją. Jos reaguoja į įvairius fiziologinius ir farmakologinius dirgiklius, todėl galima išsamiai tirti širdies signalų perdavimo kelius, jonų kanalų funkciją ir vaistų poveikį širdies ląstelėms. Ši ląstelių linija yra ypač vertinga širdies aritmijų, hipertrofijos ir kitų širdies patologijų modeliavimui. Be to, HL-1 ląstelės naudojamos didelio našumo vaistų atrankos tyrimuose, kurių tikslas – identifikuoti junginius, reguliuojančius širdies funkciją, o tai yra labai svarbu kuriant naujus širdies ir kraujagyslių ligų gydymo būdus.

Organism

Pelė

Tissue

Širdis, kairysis prieširdis

Disease

Normalus prieširdžio kardiomiocitas (nemirtingas dėl SV40 didžiojo T antigeno, išaugintas iš AT-1 linijos; savaime susitraukiantis; standartinėmis naudojimo sąlygomis nesukeliantis navikų)

Applications

Širdies fiziologija ir elektrofiziologija; kardiomiocitų biologija; širdies aritmijų modeliavimas; jonų kanalų funkcija (IKr, INa, ICaL); širdies hipertrofija ir remodeliacija; širdies išemija/reperfuzijos pažeidimas; vaistų kardiotoksiškumo atranka; koneksino 43 ir tarpląstelinio jungimo biologija; prieširdžių specifinė genų ekspresija (ANF, α -MHC, α -aktinas); spontaniškos susitraukimo gebos tyrimai; didelio našumo širdies vaistų atranka; daugelio elektrodų masyvo (MEA) elektrofiziologija

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Charakteristikos

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgeninis

Age

Nenustatyta

Gender

Moteris

Ethnicity

Netaikoma (transgeninių pelių veislė C3HeB/FeJ; veisimas Q)

Morphology

Panašus į kardiomiocitą

HL-1 ląstelės | 305264

Cell type	Kardiomiocitai
-----------	----------------

Growth properties	Prigludęs
-------------------	-----------

Reguliavimo duomenys

Citation	HL-1 (Cytion katalogo numeris 305264)
----------	---------------------------------------

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

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

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

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: Simiano virusas 40 (SV40)
---------	---

Tvarkymas

Culture Medium	„Claycomb“ terpė, 2 mM glutamino, 10 % FBS, 0,1 mM norepinefrino L-askorbo rūgštyje (mes neparduodame) Paruoškite 0,1 mM norepinefrino tirpalą L-askorbo rūgštyje: Paruoškite 100 kartų koncentruotą tirpalą = 10 mM norepinefrino. 1. Paruoškite 30 mM L-askorbo rūgšties tirpalą (50 mL) 2. Į askorbo rūgšties tirpalą (50 ml) įpilkite 160 mg norepinefrino = 10 mM norepinefrino 3. Steriliai filtruokite tirpalą per 0,2 µm filtravimo kasetę. 4. Į sterilius buteliukus įpilkite po 1 ml 100 kartų koncentruoto norepinefrino tirpalo ir laikykite -20 °C temperatūroje. Apvyniokite aliuminio folija; tirpalą būtina apsaugoti nuo šviesos. Tirpalas -20 °C temperatūroje išlieka stabilus maždaug 1 mėnesį. 5. Į 100 ml Claycomb terpės įpilkite 1 ml šio tirpalo. Terpė išlieka stabili tik 1 mėnesį.
----------------	---

Supplements	Į terpę įpilkite 10 % FBS, 2 mM glutamino, 0,1 mM norepinefrino L-askorbo rūgštyje
-------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

HL-1 ląstelės | 305264**Doubling time** maždaug nuo 24 iki 36 valandų

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio 1-3**Seeding density** $2-4 \times 10^4$ ląstelės/cm²**Fluid renewal** Kasdien (Claycomb Medium keičiamas kas 24 valandas, siekiant išlaikyti susitraukiamąjį fenotipą)

Post-Thaw Recovery Atšildžius, ląsteles perkelti į fibronektinu ir želatinu padengtus kolbelius (iš anksto padengti 12,5 µg/ml fibronektino ir 0,02 % želatinos tirpalu; inkubuoti 37 °C temperatūroje ne mažiau kaip 1 valandą, prieš sėjimą išsiurbti skystį). Prieš pirmąjį terpės keitimą palaukite 24-48 valandas, kol ląstelės prisitvirtins ir atsigaus. Vėliau kasdien papildykite papildyta Claycomb terpę.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HL-1 ląstelės | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolio.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Ląstelių kultūros kolbos turi būti padengtos fibronektinu ir želatinu. 25 μg fibronektino, ištirpinto 2 ml 0,02 % želatinos tirpalo vandenyje, supilama į T25 kolbą ir inkubuojama per naktį 37°C temperatūroje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

HL-1 ląstelės | 305264

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.