

AC16 kardiomiocītu šūnu līnija | 305215

Vispārīga informācija

Description

AC16 šūnu līnijai, kas iegūta no cilvēka kambaru šūnām, kas sapludinātas ar SV40 transformētām, piemīt kardiomiocītiem raksturīgas īpašības, tostarp tādu transkripcijas faktoru kā GATA4, MYCD, NFATc4 un kontrakcijas proteīnu, piemēram, alfa- un beta- miozīna smagās ķēdes, ekspresija. AC16 šūnas arī ekspresē spraugas savienojuma proteīnus koneksīnu-43 un koneksīnu-40, un to funkcionālo plaisu savienojumu funkcionēšanu apstiprina krāsu savienošanas pētījumi, tādējādi uzsverot to lietderību kardiomiocītu pētniecībā. Ja SV40 onkogēns tiek apklusināts, AC16 pāriet uz diferencētāku stāvokli, ko raksturo BMP2 ekspresija, kas liecina par sirds diferenciaciju un attīstības regulāciju.

Kopumā zinātnieki izmanto dažādas metodes, tostarp cilmes šūnu diferenciaciju, dzīvnieku modeļus, molekulāro analīzi un biomarkieru atklāšanu, lai uzlabotu zināšanas un potenciālo terapiju ar sirdi saistītu slimību ārstēšanā. Mitogēnu un novecošanās ceļu iesaistīšana kopā ar timidīnkināzes indukciju vēl vairāk izskaidro cilvēka kardiomiocītu sarežģīto dabu un to reakciju uz patoloģiskiem apstākļiem.

AC16 cilvēka kardiomiocītu šūnu līnijas spēja imitēt nobriedušu kardiomiocītu uzvedību padara to par vērtīgu modeli kardioloģijas pētījumiem. Tā ļoti līdzinās primāro kardiomiocītu ģenētiskajam sastāvam, kas ļauj veikt pētījumus par sirds attīstību, patoloģiju un histonu zuduma ietekmi in vitro, tomēr kardiomiocītu uzvedība un ģenētiskā sarežģītība var pilnībā neatbilst primāro vai cilmes šūnu iegūto kardiomiocītu uzvedībai. Toksikoloģijas un sirds un asinsvadu slimību pētījumu kontekstā AC16 šūnas ir svarīgs instruments, lai izprastu kardiomiocītu attīstību, iekaisumu, bojājumus, reģenerāciju un toksikoloģisko ietekmi.

AC16 cilvēka kardiomiocītu šūnu līnijas unikālās īpašības, tostarp tās reakcija uz attīstības signāliem un spēja simulēt cilvēka kardiomiocītu fizioloģiskos apstākļus, padara to par neaizstājamu palīgu, lai atklātu sirds slimību noslēpumus un izstrādātu jaunas terapeitiskas iejaukšanās.

Organism Cilvēks

Tissue Sirds, sirds kambaris

Applications Pētījumi toksikoloģijas un sirds un asinsvadu slimību jomā ir vērsti uz kardiomiocītu attīstības, iekaisuma, traumu, reģenerācijas un toksikoloģiskās iedarbības izpratni. Zinātnieki izmanto dažādas metodes, tostarp cilmes šūnu diferenciaciju, dzīvnieku modeļus, molekulāro analīzi un biomarkieru atklāšanu, lai uzlabotu zināšanas un potenciālo terapiju ar sirdi saistītu slimību ārstēšanā.

Synonyms Cilvēka hibrīda kardiomiocīts

Raksturojums

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlija

Cell type Kardiomiocīti

AC16 kardiomiocītu šūnu līnija | 305215

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation AC16 kardiomiocītu šūnu līnija (Cytion kataloga numurs 305215)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4U18

GMO Status GMO-S1: Šī AC16 atvasinātā cilvēka kardiomiocītu šūnu līnija satur SV40 T-antigēna konstrukciju, kas ieviesta ar transfekcijas metodi, tādējādi veicinot nosacītu imortalizāciju. Konstrukts ir stabili integrēts uridīna alohtrofiskajās fibroblastu atvasinātajās šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Viruses Transformēts ar SV40 lielo T-antigēnu

Darbs ar**Culture Medium**

Kultūras barotne: DMEM: Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a). Papildināt barotni ar 12,5 % FBS un pievienot 0,9 mM L-glutamīna, lai galējā koncentrācija būtu 2,5 mM L-glutamīna
Diferenciācijas barotne: DMEM: Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a). Lai sagatavotu pilnu diferenciācijas barotni, pievieno 1x ITS+ (Gibco, kataloga numurs 41400045) un 2% zirgu serumu (Gibco, kataloga numurs 16050130).

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

AC16 kardiomiocītu šūnu līnija | 305215**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

AC16 kardiomiocītu šūnu līnija | 305215

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.