

HL-1 šūnas | 305264

Vispārīga informācija

Description

HL-1 ir sirds muskuļu šūnu līnija, kas iegūta no pieaugušas peles priekškambaru kardiomiocītiem. Šī šūnu līnija ir unikāla ar to, ka ilgtermiņa kultivēšanas laikā tā saglabā spēju saraukties un uzturēt diferencētu sirds fenotipu, tādējādi kļūstot par nenovērtējamu modeli sirds un asinsvadu pētījumos. HL-1 šūnas plaši izmanto pētījumos, kas veltīti sirds fizioloģijai, elektrofizioloģijai un farmakoloģijai. To spēja veikt gan spontānas, gan inducējamas kontrakcijas ļauj pētniekiem izpētīt molekulāros mehānismus, kas ir pamatā sirds muskuļa darbībai, slimībām un reakcijai uz terapeitiskajiem līdzekļiem.

HL-1 šūnas izrāda sirds muskuļa šūnām raksturīgas īpašības, tostarp sirdij specifisku marķieru, piemēram, troponīna, miozīna un koneksīna 43, ekspresiju. Tās reaģē uz dažādiem fizioloģiskiem un farmakoloģiskiem stimuliem, ļaujot veikt detalizētus pētījumus par sirds signālu pārnesei ceļiem, jonu kanālu funkciju un zāļu ietekmi uz sirds šūnām. Šī šūnu līnija ir īpaši vērtīga sirds aritmiju, hipertrofijas un citu sirds patoloģiju modelēšanai. Turklāt HL-1 šūnas tiek izmantotas augstas caurlaidspējas zāļu skrīninga testos, kuru mērķis ir identificēt savienojumus, kas modulē sirds funkciju, kas ir būtiski jaunu sirds un asinsvadu slimību ārstēšanas metožu izstrādē.

Organism

Pele

Tissue

Sirds, kreisais priekškambaris

Disease

Normāls priekškambara kardiomiocīts (imortalizēts ar SV40 lielā T antigēna palīdzību, izmantojot AT-1 šūnu līniju; spontāni saraujas; standarta lietošanas apstākļos nav tumorogēns)

Applications

Sirds fizioloģija un elektrofizioloģija; kardiomiocītu bioloģija; sirds aritmiju modelēšana; jonu kanālu funkcija (IKr, INa, I_{CaL}); sirds hipertrofija un pārveidošanās; sirds išēmija/reperfūzijas bojājums; zāļu kardiotsitotoksitātes skrīnings; koneksīna 43 un šūnu savienojumu bioloģija; priekškambaru specifiskā gēnu ekspresija (ANF, α -MHC, α -aktīns); spontānās kontraktilitātes analīzes; augstas caurlaidspējas sirds zāļu skrīnings; daudzelektrodu masīva (MEA) elektrofizioloģija

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Raksturojums

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgēniski

Age

Nav norādīts

Gender

Sievietes

Ethnicity

Neattiecas (C3HeB/FeJ transgēnā peles šķirne; pavairota Q)

Morphology

Kardiomiocītu līdzīgs

HL-1 šūnas | 305264

Cell type	Kardiomiocīti
-----------	---------------

Growth properties	Adherent
-------------------	----------

Normatīvie dati

Citation	HL-1 (Cytion kataloga numurs 305264)
----------	--------------------------------------

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

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

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

Biomolekulārie dati

Viruses	Transformants: Sīmiāna vīruss 40 (SV40)
---------	---

Darbs ar

Culture Medium	Claycomb barotne, 2 mM glutamīns, 10 % FBS, 0,1 mM norepinefrīns L-askorbīnskābē (mēs to nepārdodam) Sagatavojiet 0,1 mM norepinefrīnu L-askorbīnskābē: Sagatavojiet 100 reizes koncentrētāku pamatšķīdumu = 10 mM norepinefrīns. 1. Pagatavojiet 30 mM L-askorbīnskābes šķīdumu (50 mL) 2. Pievienojiet 160 mg norepinefrīna askorbīnskābes šķīdumam (50 ml) = 10 mM norepinefrīna 3. Šķīdumu sterili filtrējiet caur 0,2 µm filtrējošo kasetni. 4. Ielejiet 1 ml alikvotas daļas no 100 reizes koncentrētā norepinefrīna pamatšķīduma sterilos flakonos un uzglabājiet -20 °C temperatūrā. Ietiniet alumīnija folijā; jāaizsargā no gaismas. Šķīdums ir stabils aptuveni 1 mēnesi -20 °C temperatūrā. 5. Pievienojiet 1 ml šā šķīduma 100 ml Claycomb barotnes. Barotne ir stabila tikai 1 mēnesi.
----------------	---

Supplements	Papildiniet barotni ar 10 % FBS, 2 mM glutamīnu un 0,1 mM norepinefrīnu L-askorbīnskābē
-------------	---

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

HL-1 šūnas | 305264

Doubling time aptuveni 24 līdz 36 stundas

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat 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.

Split ratio no 1 līdz 3

Seeding density 2 līdz 4×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal Katru dienu (Claycomb Medium tiek nomainīts ik pēc 24 stundām, lai saglabātu kontraktīlo fenotipu)

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas šūnas izsējiet uz kolbām, kas pārklātas ar fibronektīnu un želatīnu (iepriekš pārklājat ar 12,5 µg/ml fibronektīna un 0,02 % želatīna; inkubējiet 37 °C temperatūrā vismaz 1 stundu, pirms izsēšanas nosūciet šķidrumu). Pirms pirmās barotnes nomaiņas ļaujiet šūnām 24–48 stundas pielipt un atjaunoties. Pēc tam ik dienas papildiniet ar bagātinātu Claycomb barotni.

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.

HL-1 šūnas | 305264**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 °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 pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x 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 pārnēsāt 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

Šūnu kultūras kolbas jāpārklāj ar fibronektīnu un želatīnu. 25 µg fibronektīna, izšķīdinātu 2 ml 0,02 % želatīna šķīduma ūdenī, ievieto T25 kolbā un inkubē nakti 37 °C temperatūrā.

**Shipping
Conditions**

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

HL-1 šūnas | 305264

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 starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

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

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