

HL-1 cellen | 305264

Algemene informatie

Description

HL-1 is een hartspiercellijn afkomstig van de atriale cardiomyocyten van een volwassen muis. Deze cellijn is uniek omdat ze het vermogen behoudt om samen te trekken en een gedifferentieerd hartfenotype op lange termijn te behouden, waardoor ze een model van onschatbare waarde is voor cardiovasculair onderzoek. HL-1 cellen worden veel gebruikt in studies gericht op cardiale fysiologie, elektrofysiologie en farmacologie. Dankzij hun vermogen om spontane en induceerbare contracties te ondergaan, kunnen onderzoekers de moleculaire mechanismen onderzoeken die ten grondslag liggen aan de hartspierfunctie, ziekte en de respons op therapeutische middelen.

HL-1 cellen vertonen karakteristieken die typisch zijn voor hartspiercellen, waaronder de expressie van hart-specifieke markers zoals troponine, myosine en connexine 43. Ze reageren op verschillende fysiologische en farmacologische factoren. Ze reageren op verschillende fysiologische en farmacologische stimuli, waardoor gedetailleerde studies van cardiale signaaltransductiepaden, ionkanaalfunctie en de effecten van medicijnen op hartcellen mogelijk zijn. Deze cellijn is bijzonder waardevol voor het modelleren van hartritmestoornissen, hypertrofie en andere cardiale pathologieën. Daarnaast worden HL-1 cellen gebruikt in high-throughput drug screening assays gericht op het identificeren van verbindingen die de hartfunctie moduleren, wat cruciaal is voor de ontwikkeling van nieuwe behandelingen voor hart- en vaatziekten.

Organism

Muis

Tissue

Hart, linkerboezem

Disease

Normale atriale cardiomyocyt (onsterfelijk gemaakt door het grote T-antigeen van SV40 via de AT-1-lijn; spant zich spontaan samen; niet-tumorigene bij normaal gebruik)

Applications

Hartfysiologie en elektrofysiologie; biologie van cardiomyocyten; modellering van hartritmestoornissen; functie van ionenkanalen (IKr, INa, ICaL); hartvergroting en -hermodellering; ischemie/reperfusieschade aan het hart; screening op cardiotoxiciteit van geneesmiddelen; de biologie van connexine 43 en gap junctions; atriumspecifieke genexpressie (ANF, α -MHC, α -actine); testen van spontane contractiliteit; high-throughput screening van hartgeneesmiddelen; elektrofysiologie met multi-elektrode-arrays (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Kenmerken

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgeen

Age

Ongespecificeerd

Gender

Vrouw

Ethnicity

Niet van toepassing (transgene muizenstam C3HeB/FeJ; gefokt in Q)

HL-1 cellen | 305264

Morphology	Cardiomyocytachtig
-------------------	--------------------

Cell type	Cardiomyocyt
------------------	--------------

Growth properties	Aanhangend
--------------------------	------------

Regelgevende gegevens

Citation	HL-1 (Cytion catalogusnummer 305264)
-----------------	--------------------------------------

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

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

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

Biomoleculaire gegevens

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

Omgaan met

Culture Medium

Claycomb-medium, 2 mM glutamine, 10% FBS, 0,1 mM norepinefrine in L-ascorbinezuur (Dit product is niet bij ons verkrijgbaar)

Bereid 0,1 mM norepinefrine in L-ascorbinezuur:

Bereid een 100-voudige stockoplossing = 10 mM norepinefrine.

1. Bereid een 30 mM L-ascorbinezuuroplossing (50 mL)
2. Voeg 160 mg norepinefrine toe aan de ascorbinezuuroplossing (50 mL) = 10 mM norepinefrine
3. Filter de oplossing steriel door een filterpatroon van 0,2 µm.
4. Vul aliquots van 1 mL van de 100-voudige norepinefrine-stockoplossing in steriele flesjes en bewaar deze bij -20 °C. Wikkel ze in aluminiumfolie; ze moeten tegen licht worden beschermd. De oplossing is bij -20 °C ongeveer 1 maand stabiel.
5. Voeg 1 mL van deze oplossing toe aan 100 mL Claycomb-medium. Het medium is slechts 1 maand houdbaar.

Supplements	Voeg aan het medium 10% FBS, 2 mM glutamine en 0,1 mM norepinefrine in L-ascorbinezuur toe
--------------------	--

HL-1 cellen | 305264**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ongeveer 24 tot 36 uur

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1 tot en met 3**Seeding density** 2 tot 4×10^4 cellen/cm²**Fluid renewal** Dagelijks (Claycomb Medium wordt om de 24 uur ververs om het contractiele fenotype te behouden)

Post-Thaw Recovery Na het ontdooien de cellen uitplaten op met fibronectine/gelatine gecoate kweekflessen (vooraf coaten met 12,5 µg/ml fibronectine en 0,02% gelatine; gedurende ≥ 1 uur bij 37 °C incuberen, afzuigen vóór het uitplaten). Laat de cellen 24-48 uur hechten en herstellen voordat u het medium voor de eerste keer vervangt. Voed de cellen daarna dagelijks met aangevuld Claycomb-medium.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HL-1 cellen | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

De celkweekflessen moeten worden gecoat met fibronectine en gelatine. 25 µg fibronectine, opgelost in 2 ml 0,02% gelatine in water, wordt in een T25-fles gedaan en een nacht bij 37 °C geïncubeerd.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

HL-1 cellen | 305264

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.