

HL-1-celler | 305264

Generell informasjon

Description

HL-1 er en hjertemuskelcellelinje som er avledet fra atriale kardiomyocytter fra en voksen mus. Denne cellelinjen er unik ved at den beholder evnen til å trekke seg sammen og opprettholde en differensiert hjertefenotype over lang tids dyrking, noe som gjør den til en uvurderlig modell for kardiovaskulær forskning. HL-1-celler er mye brukt i studier med fokus på hjertefysiologi, elektrofysiologi og farmakologi. Cellenes evne til å gjennomgå spontane og induserbare sammentrekninger gjør det mulig for forskere å undersøke de molekylære mekanismene som ligger til grunn for hjertemuskelfunksjon, sykdom og respons på terapeutiske midler.

HL-1-celler har egenskaper som er typiske for hjertemuskelceller, blant annet uttrykk av hjertespesifikke markører som troponin, myosin og connexin 43. De reagerer på ulike fysiologiske og farmakologiske stimuli, noe som muliggjør detaljerte studier av hjertets signaltransduksjonsveier, ionekanalfunksjon og effekten av legemidler på hjerteceller. Denne cellelinjen er spesielt verdifull for modellering av hjertearytmier, hypertrofi og andre hjertepatologier. I tillegg brukes HL-1-celler i høykapasitets screeninganalyser for å identifisere stoffer som modulerer hjertefunksjonen, noe som er avgjørende for utviklingen av nye behandlinger for hjerte- og karsykdommer.

Organism

Mus

Tissue

Hjerte, venstre forkammer

Disease

Normal forkammerkardiomyocyt (immortaliseret med SV40-stort T-antigen via AT-1-linjen; med spontan sammentrekning; ikke-tumorgen ved normal bruk)

Applications

Hjertefysiologi og elektrofysiologi; kardiomyocytbiologi; modellering av hjertearytmier; ionekanalfunksjon (IKr, INa, ICaL); hjertehypertrofi og -remodellering; hjerteiskemi/reperfusjonsskade; screening av kardiotoxiske legemidler; connexin43 og gap junction-biologi; atriespesifikk genuttrykk (ANF, α -MHC, α -aktin); analyser av spontan kontraktilitet; høykapasitets screening av hjertemedisiner; elektrofysiologi ved hjelp av multielektrodearray (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Kjennetegn

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgen

Age

Uspesifisert

Gender

Kvinne

Ethnicity

Ikke relevant (transgen musestamme C3HeB/FeJ; avlet i Q)

HL-1-celler | 305264**Morphology** Kardiomyocyttilignende**Cell type** Kardiomyocyt**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** HL-1 (Cytion katalognummer 305264)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0303**Biomolekylære data****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Håndtering**

Culture Medium

Claycomb-medium, 2 mM glutamin, 10 % FBS, 0,1 mM noradrenalin i L-askorbinsyre (Vi selger ikke dette)

Tilbered 0,1 mM noradrenalin i L-askorbinsyre:

Tilbered en 100-foldig stamløsning = 10 mM noradrenalin.

1. Tilbered en 30 mM L-askorbinsyreoppløsning (50 mL)
2. Tilsett 160 mg noradrenalin til askorbinsyreoppløsningen (50 ml) = 10 mM noradrenalin
3. Filtrer løsningen sterilt gjennom en 0,2 µm filterpatron.
4. Fyll 1-mL-aliquoter av den 100-foldige norepinefrin-stamløsningen i sterile hetteglass og oppbevar ved -20 °C. Pakk inn i aluminiumsfolie; må beskyttes mot lys. Løsningen er stabil i ca. 1 måned ved -20 °C.
5. Tilsett 1 ml av denne løsningen til 100 ml Claycomb-medium. Mediet er kun stabilt i 1 måned.

Supplements Tilsett 10 % FBS, 2 mM glutamin og 0,1 mM noradrenalin i L-askorbinsyre til mediet**Dissociation Reagent** Accutase

HL-1-celler | 305264**Doubling time** ca. 24 til 36 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio 1 til 3**Seeding density** 2 til 4×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** Daglig (Claycomb Medium skiftes ut hver 24. time for å opprettholde den kontraktile fenotypen)

Post-Thaw Recovery Etter tining skal cellene sås på kolber belagt med fibronektin og gelatin (forhåndsbelegg med 12,5 µg/ml fibronektin og 0,02 % gelatin; inkuber ved 37 °C i minst 1 time, sug ut væsken før såing). La cellene feste seg og komme seg i 24–48 timer før det første medieskiftet. Tilfør deretter daglig Claycomb-medium tilsatt næringsstoffer.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

HL-1-celler | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Cellekulturflaskene må belegges med fibronektin og gelatin. 25 μg fibronektin, oppløst i 2 ml 0,02 % gelatin i vann, helles i en T25-flaske og inkuberes over natten ved 37°C

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

HL-1-celler | 305264

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.