

Komórki HL-1 | 305264**Informacje ogólne****Description**

HL-1 to linia komórek mięśnia sercowego pochodząca z kardiomiocytów przedsionkowych dorosłej myszy. Ta linia komórkowa jest wyjątkowa, ponieważ zachowuje zdolność do kurczenia się i utrzymywania zróżnicowanego fenotypu serca podczas długotrwałej hodowli, co czyni ją nieocenionym modelem do badań nad układem sercowo-naczyniowym. Komórki HL-1 są szeroko stosowane w badaniach koncentrujących się na fizjologii serca, elektrofizjologii i farmakologii. Ich zdolność do poddawania się spontanicznym i indukowanym skurczom pozwala naukowcom badać mechanizmy molekularne leżące u podstaw funkcji mięśnia sercowego, chorób i odpowiedzi na środki terapeutyczne.

Komórki HL-1 wykazują cechy typowe dla komórek mięśnia sercowego, w tym ekspresję markerów specyficznych dla serca, takich jak troponina, miozyna i connexin 43. Reagują na różne bodźce fizjologiczne i farmakologiczne, umożliwiając szczegółowe badania szlaków transdukcji sygnału sercowego, funkcji kanałów jonowych i wpływu leków na komórki serca. Ta linia komórkowa jest szczególnie cenna w modelowaniu arytmii serca, przerostu i innych patologii serca. Ponadto, komórki HL-1 są wykorzystywane w wysokowydajnych testach przesiewowych leków mających na celu identyfikację związków modulujących czynność serca, co ma kluczowe znaczenie dla rozwoju nowych metod leczenia chorób sercowo-naczyniowych.

Organism

Mysz

Tissue

Serce, lewy przedsionek

Disease

Normalny kardiomiocyt przedsionkowy (unieśmiertelniony za pomocą dużego antygeny T wirusa SV40 poprzez linię komórkową AT-1; wykazujący spontaniczne skurcze; nie wywołujący nowotworów przy standardowym stosowaniu)

Applications

Fizjologia i elektrofizjologia serca; biologia kardiomiocytów; modelowanie arytmii serca; funkcjonowanie kanałów jonowych (IKr, INa, I_{CaL}); przerost i przebudowa serca; uszkodzenie serca spowodowane niedokrwieniem i reperfuzją; badania przesiewowe pod kątem kardiotoxyczności leków; biologia koneksyny 43 i połączeń szczelinowych; ekspresja genów specyficznych dla przedsionków (ANF, α -MHC, α -aktyna); badania spontanicznej kurczliwości; wysokoprzepustowe badania przesiewowe leków kardiologicznych; elektrofizjologia z wykorzystaniem matrycy wieloelektrodowej (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

Transgeniczny C3HeB/FeJ

Age

Nieokreślony

Gender

Kobieta

Komórki HL-1 | 305264

Ethnicity	Nie dotyczy (szczep myszy transgeniczných C3HeB/FeJ; hodowla w Q)
------------------	---

Morphology	Podobne do kardiomiocytów
-------------------	---------------------------

Cell type	Kardiomiocyt
------------------	--------------

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

Dane regulacyjne

Citation	HL-1 (numer katalogowy Cytion 305264)
-----------------	---------------------------------------

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

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

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

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium	Pożywka Claycoma, 2 mM glutaminy, 10% FBS, 0,1 mM norepinefryny w kwasie L-askorbinowym (nie prowadzimy sprzedaży) Przygotować 0,1 mM norepinefryny w kwasie L-askorbinowym: Przygotować 100-krotny roztwór podstawowy = 10 mM norepinefryny. 1. Przygotować roztwór kwasu L-askorbinowego o stężeniu 30 mM (50 ml) 2. Dodać 160 mg noradrenaliny do roztworu kwasu askorbinowego (50 ml) = 10 mM noradrenaliny 3. Przefiltrować roztwór sterylnie przez wkład filtrujący o wielkości porów 0,2 µm. 4. Napełnij sterylne fiołki 1-mililitrowymi porcjami 100-krotnego roztworu podstawowego norepinefryny i przechowuj w temperaturze -20 °C. Owiń folią aluminiową; należy chronić przed światłem. Roztwór jest stabilny przez około 1 miesiąc w temperaturze -20 °C. 5. Do 100 ml pożywki Claycoma dodać 1 ml tego roztworu. Pożywka zachowuje stabilność jedynie przez 1 miesiąc.
-----------------------	---

Komórki HL-1 | 305264

Supplements Do pożywki należy dodać 10% FBS, 2 mM glutaminy oraz 0,1 mM noradrenaliny w roztworze kwasu L-askorbinowego

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ok. 24–36 godzin

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio od 1 do 3

Seeding density 2 do 4×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal Codziennie (Claycomb Medium wymieniano co 24 godziny w celu utrzymania fenotypu skurczowego)

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu należy wysiać komórki na kolby pokryte fibronektyną i żelatyną (wstępnie pokryć warstwą 12,5 µg/ml fibronektyny i 0,02% żelatyny; inkubować w temperaturze 37°C przez co najmniej 1 godzinę, a przed wysiewem usunąć nadmiar roztworu). Przed pierwszą wymianą pożywki należy odczekać 24–48 godzin na przyleganie i regenerację komórek. Następnie codziennie uzupełniać pożywkę Claycomb Medium.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HL-1 | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Kolby do hodowli komórkowej należy pokryć fibronektyną i żelatyną. 25 μg fibronektyny, rozpuszczonej w 2 ml 0,02% roztworu żelatyny w wodzie, umieszcza się w kolbie T25 i inkubuje przez noc w temperaturze 37°C .

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HL-1 | 305264

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.