

Células HL-1 | 305264

Informações gerais

Description

A HL-1 é uma linha celular de músculo cardíaco derivada dos cardiomiócitos atriais de um rato adulto. Esta linha celular é única, na medida em que mantém a capacidade de se contrair e de preservar um fenótipo cardíaco diferenciado ao longo de uma cultura a longo prazo, tornando-a um modelo inestimável para a investigação cardiovascular. As células HL-1 são amplamente utilizadas em estudos centrados na fisiologia cardíaca, eletrofisiologia e farmacologia. A sua capacidade de sofrer contrações espontâneas e induzíveis permite aos investigadores estudar os mecanismos moleculares subjacentes à função do músculo cardíaco, às doenças cardíacas e à resposta a agentes terapêuticos.

As células HL-1 apresentam características típicas das células do músculo cardíaco, incluindo a expressão de marcadores específicos do coração, tais como a troponina, a miosina e a conexina 43. São sensíveis a vários estímulos fisiológicos e farmacológicos, permitindo estudos detalhados das vias de transdução de sinais cardíacos, da função dos canais iônicos e dos efeitos dos fármacos nas células cardíacas. Esta linha celular é particularmente valiosa para a modelação de arritmias cardíacas, hipertrofia e outras patologias cardíacas. Além disso, as células HL-1 são utilizadas em ensaios de triagem de fármacos de alto rendimento, com o objetivo de identificar compostos que modulam a função cardíaca, o que é crucial para o desenvolvimento de novos tratamentos para doenças cardiovasculares.

Organism

Rato

Tissue

Coração, átrio esquerdo

Disease

Cardiomiócito atrial normal (imortalizado pelo antígeno T grande do SV40 através da linhagem AT-1; com contração espontânea; não tumorigénico em condições normais de utilização)

Applications

Fisiologia e eletrofisiologia cardíacas; biologia dos cardiomiócitos; modelação de arritmias cardíacas; função dos canais iônicos (IKr, INa, I_{CaL}); hipertrofia e remodelação cardíacas; lesão por isquemia/reperfusão cardíaca; rastreio de cardiotoxicidade de fármacos; biologia da conexina 43 e das junções comunicantes; expressão génica específica do átrio (ANF, α -MHC, α -actina); ensaios de contratilidade espontânea; triagem de fármacos cardíacos de alto rendimento; eletrofisiologia com matriz de elétrodos múltiplos (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Caraterísticas

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgénico

Age

Não especificado

Gender

Feminino

Ethnicity

Não aplicável (linha de ratos transgénicos C3HeB/FeJ; criados em Q)

Células HL-1 | 305264**Morphology** Semelhante a um cardiomiócito**Cell type** Cardiomiócito**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** HL-1 (número de catálogo da Cytion 305264)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0303**Dados biomoleculares****Viruses** Transformante: Vírus símio 40 (SV40)**Manuseamento****Culture Medium**

Meio Claycomb, 2 mM de glutamina, 10% de FBS, 0,1 mM de norepinefrina em ácido L-ascórbico (Não comercializamos)

Prepare 0,1 mM de norepinefrina em ácido L-ascórbico:

Prepare uma solução-mãe 100 vezes mais concentrada = 10 mM de norepinefrina.

1. Prepare uma solução de ácido L-ascórbico a 30 mM (50 mL)
2. Adicione 160 mg de norepinefrina à solução de ácido ascórbico (50 mL) = 10 mM de norepinefrina
3. Filtre a solução de forma estéril através de um cartucho filtrante de 0,2 µm.
4. Encha alíquotas de 1 mL da solução-mãe de norepinefrina 100 vezes concentrada em frascos estéreis e armazene a -20 °C. Envolve em papel de alumínio; deve ser protegida da luz. A solução é estável durante aproximadamente 1 mês a -20 °C.
5. Adicione 1 mL desta solução a 100 mL de meio Claycomb. O meio é estável apenas durante 1 mês.

Supplements Adicione ao meio 10 % de FBS, 2 mM de glutamina e 0,1 mM de norepinefrina em ácido L-ascórbico

Células HL-1 | 305264**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** aprox. 24 a 36 horas

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1 a 3**Seeding density** 2 a 4 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** Diariamente (o meio Claycomb é substituído a cada 24 horas para manter o fenótipo contrátil)

Post-Thaw Recovery Após a descongelação, semeie as células em frascos revestidos com fibronectina/gelatina (revestir previamente com 12,5 µg/ml de fibronectina e 0,02% de gelatina; incubar a 37 °C durante ≥1 hora; aspirar antes da sementeira). Aguarde 24-48 horas para a aderência e recuperação antes da primeira troca de meio. A partir daí, alimente diariamente com meio Claycomb suplementado.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HL-1 | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Os frascos de cultura celular devem ser revestidos com fibronectina e gelatina. Colocam-se 25 μg de fibronectina, dissolvidos em 2 ml de gelatina a 0,02% em água, num frasco T25 e incubam-se durante a noite a 37°C

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HL-1 | 305264

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.