

Bunky HL-1 | 305264**Všeobecné informácie****Description**

HL-1 je bunková línia srdcového svalu odvodená z predsieňových kardiomyocytov dospeljej myši. Táto bunková línia je jedinečná tým, že si aj pri dlhodobej kultivácii zachováva schopnosť kontrakcie a udržiava diferencovaný kardiálny fenotyp, čo z nej robí neoceniteľný model pre kardiovaskulárny výskum. Bunky HL-1 sa široko využívajú v štúdiách zameraných na fyziológiu srdca, elektrofyziológiu a farmakológiu. Ich schopnosť podliehať spontánnym a indukovateľným kontrakciám umožňuje výskumníkom skúmať molekulárne mechanizmy, ktoré sú základom funkcie srdcového svalu, ochorení a reakcie na terapeutické látky.

Bunky HL-1 vykazujú charakteristiky typické pre bunky srdcového svalu, vrátane expresie markerov špecifických pre srdce, ako sú troponín, myozín a konnexín 43. Reagujú na rôzne fyziologické a farmakologické podnety, čo umožňuje podrobné štúdium dráh prenosu signálov v srdci, funkcie iónových kanálov a účinkov liekov na srdcové bunky. Táto bunková línia je obzvlášť cenná pri modelovaní srdcových arytmií, hypertrofie a iných srdcových patológií. Okrem toho sa bunky HL-1 používajú vo vysokokapacitných skriningových testoch liekov zameraných na identifikáciu zlúčenín, ktoré modulujú srdcovú funkciu, čo je kľúčové pre vývoj nových spôsobov liečby kardiovaskulárnych ochorení.

Organism

Myš

Tissue

Srdce, ľavá predsieň

Disease

Normálny predsieňový kardiomyocyt (imortalizovaný veľkým T-antigénom vírusu SV40 prostredníctvom línie AT-1; spontánne sa sťahujúci; pri bežnom používaní netumorogénny)

Applications

Fyziológia a elektrofyziológia srdca; biológia kardiomyocytov; modelovanie srdcových arytmií; funkcia iónových kanálov (IKr, INa, I_{CaL}); srdcová hypertrofia a remodelácia; poškodenie srdca v dôsledku ischemie/reperfúzie; skrining kardiotoxicity liekov; biológia konnexínu 43 a medzerových spojení; expresia génov špecifických pre predsieň (ANF, α -MHC, α -aktín); testy spontánnej kontraktility; vysokokapacitné skriningové testy liekov na srdce; elektrofyziológia s využitím multi-elektrodového poľa (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Charakteristika**Breed/Subspecies**

C3HeB/FeJ transgénné

Age

Nešpecifikované

Gender

Ženy

Ethnicity

Neplatí (transgénný kmeň myší C3HeB/FeJ; chov v Q)

Morphology

podobné kardiomyocytom

Bunky HL-1 | 305264**Cell type** Kardiomyocyty**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** HL-1 (katalógové číslo Cytion 305264)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0303**Biomolekulárne údaje****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Spracovanie****Culture Medium** Claycombovo médium, 2 mM glutamínu, 10 % FBS, 0,1 mM norepinefrínu v kyseline L-askorbovej (toto médium nepredávame)

Pripravte 0,1 mM norepinefrínu v kyseline L-askorbovej:

Pripravte 100-násobný zásobný roztok = 10 mM norepinefrínu.

1. Pripravte 30 mM roztok kyseliny L-askorbovej (50 mL)
2. Pridajte 160 mg norepinefrínu do roztoku kyseliny askorbovej (50 ml) = 10 mM norepinefrínu
3. Roztok sterilne prefiltrovajte cez 0,2-µm filtračnú vložku.
4. Naplňte 1-ml alikvóty 100-násobného zásobného roztoku norepinefrínu do sterilných injekčných liekoviek a uchovávajte pri teplote -20 °C. Zabalte do hliníkovej fólie; musí byť chránený pred svetlom. Roztok je stabilný približne 1 mesiac pri teplote -20 °C.
5. Pridajte 1 ml tohto roztoku do 100 ml Claycombovho média. Médium je stabilné iba 1 mesiac.

Supplements Do živného média pridajte 10 % FBS, 2 mM glutamínu a 0,1 mM norepinefrínu v roztoku kyseliny L-askorbovej**Dissociation Reagent** Accutase

Bunky HL-1 | 305264**Doubling time** približne 24 až 36 hodín

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Split ratio 1 až 3

Seeding density 2 až 4 x 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal Každý deň (Claycomb Medium sa vymieňa každých 24 hodín s cieľom zachovať kontraktilný fenotyp)

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste bunky na kultivačné fľaše potiahnuté fibronektínom a želatínou (predbežne potiahnite 12,5 µg/ml fibronektínu a 0,02 % želatíny; inkubujte pri 37 °C aspoň 1 hodinu, pred naočkovaním odsajte). Pred prvou výmenou živného média nechajte bunky 24–48 hodín priľnúť a zotaviť sa. Následne ich denne dopĺňajte obohateným Claycombovým médiom.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HL-1 | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150°C , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37°C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Fľaše na bunkové kultúry musia byť potiahnuté fibronektínom a želatínou. 25 μg fibronektínu, rozpusteného v 2 ml 0,02 % roztoku želatíny vo vode, sa vloží do fľaše T25 a inkubuje sa cez noc pri teplote 37°C .

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78°C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HL-1 | 305264

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.