

HL-1 celice | 305264

Splošne informacije

Description

HL-1 je celična linija srčne mišice, pridobljena iz predsrdnih kardiomiocitov odrasle miši. Ta celična linija je edinstvena, saj ohranja sposobnost krčenja in ohranja diferenciran srčni fenotip tudi med dolgotrajnim gojenjem, kar jo naredi neprecenljiv model za raziskave na področju kardiovaskularne medicine. Celice HL-1 se pogosto uporabljajo v študijah, osredotočenih na srčno fiziologijo, elektrofiziologijo in farmakologijo. Njihova sposobnost spontan in inducibilnih krčenj omogoča raziskovalcem preučevanje molekularnih mehanizmov, ki so osnova delovanja srčne mišice, bolezni in odziva na terapevtska sredstva.

Celice HL-1 kažejo značilnosti, tipične za celice srčne mišice, vključno z izražanjem srčno specifičnih markerjev, kot so troponin, miosin in koneksin 43. Odzivajo se na različne fiziološke in farmakološke dražljaje, kar omogoča podrobne študije poti prenosa signalov v srcu, delovanja ionskih kanalov ter učinkov zdravil na srčne celice. Ta celična linija je še posebej dragocena za modeliranje srčnih aritmij, hipertrofije in drugih srčnih patologij. Poleg tega se celice HL-1 uporabljajo v testih za presejanje zdravil z visoko zmogljivostjo, namenjenih identifikaciji spojin, ki modulirajo srčno delovanje, kar je ključnega pomena za razvoj novih načinov zdravljenja kardiovaskularnih bolezni.

Organism

Miška

Tissue

Srce, levo predsrdje

Disease

Normalni predsrdni kardiomiocit (imortaliziran z velikim T-antigenom SV40 prek linije AT-1; spontano se krči; pri standardni uporabi ne povzroča tumorjev)

Applications

Srčna fiziologija in elektrofiziologija; biologija kardiomiocitov; modeliranje srčnih aritmij; delovanje ionskih kanalov (IKr, INa, ICaL); srčna hipertrofija in preoblikovanje; poškodba zaradi srčne ishemije/reperfuzije; presejanje kardiotoksičnosti zdravil; biologija koneksina 43 in gap junctionov; ekspresija genov, specifičnih za predsrdka (ANF, α -MHC, α -aktin); preskusi spontanega krčenja; presejanje zdravil za srce z visoko zmogljivostjo; elektrofiziologija z uporabo večelektrodne mreže (MEA)

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Značilnosti

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgeni

Age

Neopredeljeno

Gender

Ženske

Ethnicity

Ne velja (transgeni mišji sev C3HeB/FeJ; vzrejen v Q)

Morphology

Podobne kardiomiocitom

HL-1 celice | 305264

Cell type	Kardiomiociti
-----------	---------------

Growth properties	Pripadajoče
-------------------	-------------

Regulativni podatki

Citation	HL-1 (katalogska številka Cytion 305264)
----------	--

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

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

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

Biomolekularni podatki

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

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium

Claycombovo gojišče, 2 mM glutamina, 10 % FBS, 0,1 mM norepinefrina v L-askorbinski kislini (tega ne prodajamo)

Pripravite 0,1 mM norepinefrina v L-askorbinski kislini:

Pripravite 100-kratno osnovno raztopino = 10 mM norepinefrina.

1. Pripravite 30 mM raztopino L-askorbinske kisline (50 mL)
2. K raztopini askorbinske kisline (50 mL) dodajte 160 mg norepinefrina = 10 mM norepinefrina
3. Raztopino sterilno filtrirajte skozi 0,2- μ m filtrirni vložek.
4. 1-mL alikvote 100-kratne osnovne raztopine norepinefrina nalijte v sterilne vialice in shranite pri -20°C . Ovijte v aluminijasto folijo; raztopino je treba zaščititi pred svetlobo. Raztopina je stabilna približno 1 mesec pri -20°C .
5. 1 mL te raztopine dodajte v 100 mL Claycombovega gojišča. Gojišče je stabilno le 1 mesec.

Supplements	Gojilnemu mediju dodajte 10 % FBS, 2 mM glutamina in 0,1 mM norepinefrina v L-askorbinski kislini
-------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

HL-1 celice | 305264

Doubling time približno 24 do 36 ur

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Split ratio 1 do 3**Seeding density** 2 do 4×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** Dnevno (Claycomb Medium se zamenja vsakih 24 ur, da se ohrani kontraktilni fenotip)

Post-Thaw Recovery Po odmrznitvi celice posadite v kolbe, prevlečene s fibronektinom in želatino (predhodno prevlečite s 12,5 µg/ml fibronektina in 0,02 % želatine; inkubirajte pri 37 °C najmanj 1 uro, pred posaditvijo odsesajte tekočino). Pred prvo zamenjavo gojišča počakajte 24-48 ur, da se celice prirastejo in si opomorejo. Nato jih vsak dan dopolnajte z obogatenim gojiščem Claycomb.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

HL-1 celice | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Posode za celične kulture morajo biti prevlečene s fibronektinom in želatino. 25 μg fibronektina, raztopljenega v 2 ml 0,02-odstotne raztopine želatine v vodi, se vlije v posodo T25 in inkubira čez noč pri 37°C .

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

HL-1 celice | 305264

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.