

HL-1 Hücreleri | 305264

Genel bilgi

Description

HL-1, yetişkin bir farenin atriyal kardiyomiyositlerinden elde edilen bir kalp kası hücre hattıdır. Bu hücre hattı, uzun süreli kültür koşullarında kasılma yeteneğini ve farklılaşmış kardiyak fenotipini koruma özelliğiyle benzersizdir; bu da onu kardiyovasküler araştırmalar için paha biçilmez bir model haline getirir. HL-1 hücreleri, kalp fizyolojisi, elektrofizyoloji ve farmakolojiye odaklanan çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Spontan ve indüklenebilir kasılmalar gösterme yetenekleri, araştırmacıların kalp kası fonksiyonu, hastalıkları ve terapötik ajanlara verilen yanıtın altında yatan moleküler mekanizmaları incelemelerine olanak tanır.

HL-1 hücreleri, troponin, miyozin ve konneksin 43 gibi kalbe özgü belirteçlerin ekspresyonu da dahil olmak üzere, kalp kası hücrelerine özgü özellikler sergiler. Çeşitli fizyolojik ve farmakolojik uyaranlara duyarlı olmaları, kalp sinyal iletim yolları, iyon kanalı fonksiyonu ve ilaçların kalp hücreleri üzerindeki etkilerinin ayrıntılı olarak incelenmesini mümkün kılar. Bu hücre hattı, kalp aritmileri, hipertrofi ve diğer kalp patolojilerinin modellenmesi açısından özellikle değerlidir. Ayrıca, HL-1 hücreleri, kardiyovasküler hastalıklar için yeni tedavilerin geliştirilmesinde hayati öneme sahip olan kalp fonksiyonunu düzenleyen bileşiklerin tanımlanmasına yönelik yüksek verimli ilaç tarama testlerinde kullanılır.

Organism

Fare

Tissue

Kalp, sol kulakçık

Disease

Normal atriyal kardiyomiyosit (AT-1 soyu aracılığıyla SV40 büyük T antijeni ile ölümsüzleştirilmiş; kendiliğinden kasılan; standart kullanımda tümör oluşturmayan)

Applications

Kalp fizyolojisi ve elektrofizyolojisi; kardiyomiyosit biyolojisi; kardiyak aritmi modellemesi; iyon kanalı fonksiyonu (IKr, INa, ICaL); kalp hipertrofisi ve yeniden şekillenmesi; kardiyak iskemi/reperfüzyon hasarı; ilaç kardiyotoksite taraması; konneksin43 ve boşluk bağlantısı biyolojisi; atriyal spesifik gen ekspresyonu (ANF, α -MHC, α -aktin); spontan kasılma testleri; yüksek verimli kardiyak ilaç taraması; çoklu elektrot dizisi (MEA) elektrofizyolojisi

Synonyms

HL1, HL-1 F2 P76

Özellikler

Breed/Subspecies

C3HeB/FeJ transgenik

Age

Belirtilmemiş

Gender

Kadın

Ethnicity

Uygulanamaz (C3HeB/FeJ transgenik fare suşu; Q'da yetiştirilen)

Morphology

Kardiyomiyosit benzeri

HL-1 Hücreleri | 305264**Cell type** Kardiomyosit**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** HL-1 (Cytion katalog numarası 305264)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0303**Biyomoleküler Veriler****Viruses** Transformant: Simian virüs 40 (SV40)**Elleçleme****Culture Medium**

Claycomb besiyeri, 2 mM glutamin, %10 FBS, L-askorbik asit içinde 0,1 mM norepinefrin (Satışa sunulmamaktadır)

L-askorbik asit içinde 0,1 mM norepinefrin hazırlayın:

100 katlık stok çözelti hazırlayın = 10 mM norepinefrin.

1. 30 mM L-askorbik asit çözeltisi (50 mL) hazırlayın

2. Askorbik asit çözeltisine (50 mL) 160 mg norepinefrin ekleyin = 10 mM norepinefrin

3. Çözeltiyi 0,2 µm'lik bir filtre kartuşundan steril olarak süzün.

4. 100 katlı norepinefrin ana çözeltisinden 1 mL'lik alıkotları steril şişelere doldurun ve -20 °C'de saklayın. Alüminyum folyoya sarın; ışıktan korunmalıdır. Çözelti, -20 °C'de yaklaşık 1 ay boyunca stabildir.

5. 1 mL bu çözeltiyi 100 mL Claycomb besiyerine ekleyin. Besiyeri sadece 1 ay boyunca stabildir.

Supplements Besiyerine %10 FBS, 2 mM glutamin ve L-askorbik asit içinde 0,1 mM norepinefrin ekleyin**Dissociation Reagent** Accutase

HL-1 Hücreleri | 305264**Doubling time** yaklaşık 24 ila 36 saat**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Split ratio** 1'den 3'e kadar**Seeding density** 2 ila 4×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** Günlük (kasılma fenotipini korumak için Claycomb Medium 24 saatte bir değiştirilir)**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra, hücreleri fibronektin/jelatin ile kaplanmış şişelere ekleyin (önceden 12,5 µg/ml fibronektin ve %0,02 jelatin ile kaplayın; 37°C'de en az 1 saat inkübe edin, ekimden önce sıvıyı boşaltın). İlk besiyeri değişiminden önce hücrelerin yapışması ve toparlanması için 24-48 saat bekleyin. Bundan sonra her gün takviyeli Claycomb Besiyeri ile besleyin.**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

HL-1 Hücreleri | 305264

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Hücre kültürü şişeleri fibronektin ve jelatin ile kaplanmalıdır. 2 ml su içinde %0,02 jelatin çözeltisi içinde çözölmüş 25 µg fibronektin, bir T25 şişesine konur ve 37°C'de bir gece boyunca inkübe edilir.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

HL-1 Hücreleri | 305264

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.