

Клетки HEL-299 | 300193

Обща информация

Description

HEL-299 е човешка клетъчна линия от белодробни фибробласти, получена от възрастен човек. Тази клетъчна линия се отличава с ограничена способност за размножаване в култура, като обикновено навлиза в стареене след приблизително десет пасажа. Тази характеристика прави HEL-299 полезен модел за изучаване на клетъчното стареене и стареене, както и на динамиката на клетъчния растеж и репликация при контролирани условия.

В допълнение към приложенията си в изследванията на стареенето, HEL-299 служи и като модел за изучаване на пътищата на сигнална трансдукция. По-конкретно е наблюдавано, че експресията на мускариновия рецептор M2 в тези клетки се понижава след стимулация с протеин киназа C. Тази реакция подчертава полезността на клетъчната линия във фармакологичните изследвания и в изследването на механизмите, които са в основата на рецепторно-медираната сигнализация и регулация. Промяната в експресията на рецептора вследствие на киназната активност може да даде представа за клетъчните отговори на външни стимули, като потенциално подпомогне разработването на терапевтични стратегии, насочени към подобни пътища при различни заболявания.

Organism Човек

Tissue Бял дроб

Synonyms HEL 299, Hel-299, Hel 299, HEL299

Характеристики

Age Плод

Gender Мъжки

Ethnicity Африкански

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HEL-299 (каталожен номер 300193 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Клетки HEL-299 | 300193

CellosaurusAccession CVCL_2480

Биомолекулярни данни

Receptors expressed M2 мускаринов рецептор**Protein expression** P53 отрицателен**Isoenzymes** G6PD, A**Virus susceptibility** Везикуларен стоматит (Индиана), полиовирус 1**Reverse transcriptase** Отрицателен**Karyotype** Нормален човешки мъж, диплоиден, стабилен

Работа с

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM стабилен глутамин, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820600a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS, 1 ng/mL bFGF**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Seeding density** 1×10^4 клетки/cm²**Post-Thaw Recovery** След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Клетки HEL-299 | 300193

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки HEL-299 | 300193

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.