

Buňky HEL-299 | 300193

Obecné informace

Description

HEL-299 je lidská buněčná linie plicních fibroblastů odvozená od dospělého jedince. Tato buněčná linie se vyznačuje zejména omezenou schopností rozmnožování v kultuře, obvykle po přibližně deseti pasážích vstupuje do senescence. Díky této vlastnosti je HEL-299 užitečným modelem pro studium buněčného stárnutí a senescence, jakož i dynamiky růstu a replikace buněk za kontrolovaných podmínek.

Kromě využití ve výzkumu stárnutí slouží HEL-299 také jako model pro studium signálních transdukčních drah. Konkrétně bylo pozorováno, že exprese muskarinového receptoru M2 je v těchto buňkách snížena po stimulaci proteinkinázou C. Tato reakce zdůrazňuje užitečnost buněčné linie ve farmakologickém výzkumu a při zkoumání mechanismů, které jsou základem signalizace a regulace zprostředkované receptory. Změna exprese receptoru po kinázové aktivitě může poskytnout vhled do buněčných odpovědí na vnější podněty a potenciálně pomoci při vývoji terapeutických strategií zaměřených na podobné dráhy u různých onemocnění.

Organism Člověk

Tissue Plíce

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

Charakteristika

Age Plod

Gender Muži

Ethnicity Africké

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation HEL-299 (katalogové číslo Cytion 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2480

Buňky HEL-299 | 300193

Biomolekulární data

Receptors expressed	M2 muskarinový receptor
Protein expression	P53 negativní
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Vesikulární stomatitida (Indiana), poliovirus 1
Reverse transcriptase	Negativní
Karyotype	Normální lidský samec, diploidní, stabilní

Zpracování

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilní glutamin, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820600a)
Supplements	Doplňte médium 10% FBS, 1 ng/ml bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4
Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ²
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10 ⁴ buněk/cm ² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Buňky HEL-299 | 300193**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HEL-299 | 300193

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 7,10
D13S317: 11,12
D16S539: 10,11
D5S818: 11,13
D7S820: 8,11
TH01: 7
TPOX: 8,12
vWA: 16
D3S1358: 16
D21S11: 28,31.2
D18S51: 14,17
Penta E: 5,12
Penta D: 2.2,9
D8S1179: 14,15
FGA: 24,25
PEZ6: H4