

HEL-299-celler | 300193

Generel information

Description

HEL-299 er en human lungefibroblastcellelinje, der stammer fra et voksent individ. Denne cellelinje er især kendt for sin begrænsede evne til at formere sig i kultur og går typisk ind i senescens efter cirka ti passager. Denne egenskab gør HEL-299 til en nyttig model til at studere cellulær aldring og senescens samt dynamikken i cellevækst og -replikation under kontrollerede forhold.

Ud over sine anvendelser i aldringsforskningen fungerer HEL-299 også som en model til at studere signaltransduktionsveje. Specifikt er det blevet observeret, at udtrykket af den muskarine M2-receptor i disse celler nedreguleres efter stimulering med proteinkinase C. Denne respons fremhæver cellelinjens anvendelighed i farmakologisk forskning og i undersøgelsen af mekanismer, der ligger til grund for receptormedieret signalering og regulering. Ændringen i receptorekspressionen efter kinaseaktivitet kan give indsigt i cellulære reaktioner på eksterne stimuli og potentielt hjælpe med at udvikle terapeutiske strategier, der er rettet mod lignende veje i forskellige sygdomme.

Organism Menneske

Tissue Lunge

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

Karakteristika

Age Foster

Gender Mand

Ethnicity Afrikansk

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation HEL-299 (Cytion katalognummer 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2480

HEL-299-celler | 300193

Biomolekylære data

Receptors expressed	M2 muskarinreceptor
Protein expression	P53 negativ
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Vesikulær stomatitis (Indiana), poliovirus 1
Reverse transcriptase	Negativ
Karyotype	Normalt menneske af hankøn, diploid, stabil

Håndtering

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820600a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS, 1 ng/mL bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ²
Post-Thaw Recovery	Efter optøning skal cellerne udplades med 5 x 10 ⁴ celler/cm ² , og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

HEL-299-celler | 300193

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HEL-299-celler | 300193

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.