

HEL-299-Zellen | 300193

Allgemeine Informationen

Description

HEL-299 ist eine menschliche Lungenfibroblasten-Zelllinie, die von einer erwachsenen Person stammt. Diese Zelllinie zeichnet sich vor allem durch ihre begrenzte Fähigkeit aus, sich in Kultur zu vermehren, und tritt in der Regel nach etwa zehn Passagen in die Seneszenz ein. Diese Eigenschaft macht HEL-299 zu einem nützlichen Modell für die Untersuchung von Zellalterung und Seneszenz sowie der Dynamik von Zellwachstum und -replikation unter kontrollierten Bedingungen.

Neben seiner Anwendung in der Alterungsforschung dient HEL-299 auch als Modell für die Untersuchung von Signaltransduktionswegen. Insbesondere wurde beobachtet, dass die Expression des M2-Muskarinrezeptors in diesen Zellen nach Stimulation mit Proteinkinase C herunterreguliert wird. Diese Reaktion unterstreicht den Nutzen der Zelllinie in der pharmakologischen Forschung und bei der Untersuchung der Mechanismen, die der rezeptorvermittelten Signalübertragung und -regulierung zugrunde liegen. Die Veränderung der Rezeptorexpression nach einer Kinaseaktivität kann Einblicke in die zellulären Reaktionen auf äußere Reize geben und möglicherweise zur Entwicklung von therapeutischen Strategien beitragen, die auf ähnliche Signalwege bei verschiedenen Krankheiten abzielen.

Organism Menschen

Tissue Lunge

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

Merkmale

Age Fötus

Gender Männlich

Ethnicity Afrika

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation HEL-299 (Cytion Katalognummer 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

HEL-299-Zellen | 300193

CellosaurusAccession CVCL_2480

Biomolekulare Daten

Receptors expressed M2-Muscarin-Rezeptor**Protein expression** P53 negativ**Isoenzymes** G6PD, A**Virus susceptibility** Vesikuläre Stomatitis (Indiana), Poliovirus 1**Reverse transcriptase** Negativ**Karyotype** Normaler Mensch, männlich, diploid, stabil

Handhabung

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM stabiles Glutamin, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820600a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10 % FBS, 1 ng/ml bFGF**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:2 bis 1:4**Seeding density** 1×10^4 Zellen/cm²

HEL-299-Zellen | 300193

Post-Thaw Recovery

Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

HEL-299-Zellen | 300193

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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