

Κύτταρα HEL-299 | 300193

Γενικές πληροφορίες

Description

Η HEL-299 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά πνευμονικών ινοβλαστών που προέρχεται από ενήλικο άτομο. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα γνωστή για την πεπερασμένη ικανότητά της να πολλαπλασιάζεται σε καλλιέργεια, καθώς συνήθως εισέρχεται σε γήρανση μετά από περίπου δέκα περάσματα. Αυτό το χαρακτηριστικό καθιστά τη HEL-299 ένα χρήσιμο μοντέλο για τη μελέτη της κυτταρικής γήρανσης και της γήρανσης, καθώς και της δυναμικής της κυτταρικής ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού υπό ελεγχόμενες συνθήκες.

Εκτός από τις εφαρμογές της στην έρευνα της γήρανσης, η HEL-299 χρησιμεύει επίσης ως μοντέλο για τη μελέτη μονοπατιών μεταγωγής σήματος. Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι η έκφραση του μουσκαρινικού υποδοχέα M2 στα κύτταρα αυτά ρυθμίζεται προς τα κάτω μετά από διέγερση με πρωτεϊνική κινάση C. Η απόκριση αυτή αναδεικνύει τη χρησιμότητα της κυτταρικής σειράς στη φαρμακολογική έρευνα και στη διερεύνηση των μηχανισμών που διέπουν τη σηματοδότηση και τη ρύθμιση μέσω υποδοχέα. Η μεταβολή της έκφρασης του υποδοχέα μετά τη δραστηριότητα της κινάσης μπορεί να παράσχει πληροφορίες σχετικά με τις κυτταρικές αποκρίσεις σε εξωτερικά ερεθίσματα, βοηθώντας ενδεχομένως στην ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών που στοχεύουν σε παρόμοια μονοπάτια σε διάφορες ασθένειες.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Πνεύμονας

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

Χαρακτηριστικά

Age Έμβρυο

Gender Άντρας

Ethnicity Αφρικανική

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation HEL-299 (αριθμός καταλόγου Cytion 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Κύτταρα HEL-299 | 300193

CellosaurusAccession CVCL_2480

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed M2 μουσκαρινικός υποδοχέας**Protein expression** P53 αρνητικό**Isoenzymes** G6PD, A**Virus susceptibility** Βρογχώδης στοματίτιδα (Indiana), ιός της πολιομυελίτιδας 1**Reverse transcriptase** Αρνητικό**Karyotype** Φυσιολογικός ανθρώπινος άνδρας, διπλοειδής, σταθερός

Χειρισμός

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM σταθερή γλουταμίνη, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820600a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 1 ng/mL bFGF**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Seeding density** 1×10^4 κύτταρα/cm²**Post-Thaw Recovery** Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

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

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα HEL-299 | 300193

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.