

## HEL-299 rakud | 300193

## Üldine teave

## Description

HEL-299 on inimese kopsufibroblastide rakuliin, mis on saadud täiskasvanud indiviidilt. See rakuliin on eriti tuntud oma piiratud võime poolest paljuneda kultuuris, mis tavaliselt jõuab vananemisele umbes kümne läbimise järel. See omadus muudab HEL-299 kasulikuks mudeliks rakkude vananemise ja vananemise ning rakkude kasvu ja paljunemise dünaamika uurimiseks kontrollitud tingimustes.

Lisaks vananemisuuringutele on HEL-299 ka mudeliks signaaliülekanne radade uurimiseks. Konkreetselt on täheldatud, et M2-muskariini retseptori ekspressioon neis rakkudes väheneb pärast valgukinaas C-stimulatsiooni. See reaktsioon rõhutab rakuliini kasulikkust farmakoloogilistes uuringutes ja retseptori poolt vahendatud signaalimise ja reguleerimise aluseks olevate mehhanismide uurimisel. Retseptori ekspressiooni muutumine pärast kinaasi aktiivsust võib anda ülevaate rakkude vastustest välistele stiimulitele, mis võib aidata kaasa selliste ravistrateegiate väljatöötamisele, mis on suunatud sarnastele radadele erinevate haiguste puhul.

**Organism** Inimene

**Tissue** Kopsud

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

## Omadused

**Age** Loote

**Gender** Mees

**Ethnicity** Aafrika

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** HEL-299 (Cytioni katalooginumber 300193)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_2480

## HEL-299 rakud | 300193

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Receptors expressed</b>	M2 muskariinireseptor
<b>Protein expression</b>	P53 negatiivne
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, A
<b>Virus susceptibility</b>	Vesikulaarne stomatiit (Indiana), polioviiirus 1
<b>Reverse transcriptase</b>	Negatiivne
<b>Karyotype</b>	Normaalne inimese mees, diploidne, stabiilne

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilne glutamiin, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820600a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS-ga, 1 ng/ml bFGF-ga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> rakku/cm <sup>2</sup>
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x 10 <sup>4</sup> rakku/cm <sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

## HEL-299 rakud | 300193

**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**HEL-299 rakud | 300193**

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.