

## HEL-299-solut | 300193

## Yleisiä tietoja

## Description

HEL-299 on ihmisen keuhkojen fibroblastisolulinja, joka on peräisin aikuiselta ihmiseltä. Tämä solulinja on tunnettu erityisesti rajallisesta lisääntymiskyvystään viljelyssä, ja se alkaa tyypillisesti vanheta noin kymmenen läpikäynnin jälkeen. Tämä ominaisuus tekee HEL-299:stä hyödyllisen mallin solujen ikääntymisen ja senesenssin sekä solujen kasvun ja lisääntymisen dynamiikan tutkimiseen kontrolloiduissa olosuhteissa.

Sen lisäksi, että HEL-299:ää käytetään ikääntymisen tutkimuksessa, se toimii myös mallina signaalinsiirtoratojen tutkimisessa. Erityisesti on havaittu, että M2-muskariinireseptorin ilmentyminen näissä soluissa vähenee proteiinikinaasi C:llä stimuloinnin jälkeen. Tämä vaste korostaa solulinjan hyödyllisyyttä farmakologisessa tutkimuksessa ja reseptorivälitteisen signaloinnin ja säätelyn taustalla olevien mekanismien tutkimisessa. Reseptorin ilmentymisen muuttuminen kinaasiaktiivisuuden seurauksena voi antaa tietoa solujen vasteista ulkoisiin ärsykkeisiin, mikä voi auttaa sellaisten terapeuttisten strategioiden kehittämisessä, jotka kohdistuvat samankaltaisiin reitteihin eri sairauksissa.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Keuhkot

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

## Ominaisuudet

**Age** Sikiö

**Gender** Mies

**Ethnicity** Afrikkalainen

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** HEL-299 (Cytionin luettelonumero 300193)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_2480

## HEL-299-solut | 300193

## Biomolekyylitiedot

<b>Receptors expressed</b>	M2-muskariinireseptori
<b>Protein expression</b>	P53 negatiivinen
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, A
<b>Virus susceptibility</b>	Vesikulaarinen stomatiitti (Indiana), poliovirus 1
<b>Reverse transcriptase</b>	Negatiivinen
<b>Karyotype</b>	Normaali ihmisuros, diploidi, vakaa

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820600a)
<b>Supplements</b>	Lisätään väliaineeseen 10 % FBS, 1 ng/ml bFGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> solua/cm <sup>2</sup>
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10 <sup>4</sup> solua/cm <sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

## HEL-299-solut | 300193

**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## HEL-299-solut | 300193

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.