

HEL-299 sejtek | 300193

Általános információk

Description

A HEL-299 egy felnőtt egyedből származó humán tüdőfibroblaszt sejtvonal. Ez a sejtvonal különösen arról nevezetes, hogy a kultúrában való szaporodási képessége véges, és jellemzően körülbelül tíz passzázs után szenezscenciába lép. Ez a tulajdonság teszi a HEL-299-et hasznos modellé a sejtek öregedésének és szenezscenciájának, valamint a sejtnövekedés és -szaporodás dinamikájának tanulmányozására ellenőrzött körülmények között.

Az öregedés kutatásában való alkalmazásán túlmenően a HEL-299 modellként szolgál a jelátviteli útvonalak tanulmányozására is. Különösen azt figyelték meg, hogy az M2 muskarin receptor expressziója ezekben a sejtekben a protein kináz C-vel történő stimulációt követően lecsökken. Ez a válasz kiemeli a sejtvonal hasznosságát a farmakológiai kutatásokban és a receptorok által közvetített jelátvitel és szabályozás alapjául szolgáló mechanizmusok vizsgálatában. A receptor expressziójának a kináz aktivitást követő megváltozása betekintést nyújthat a külső ingerekre adott sejtválaszokba, ami potenciálisan segíthet a különböző betegségek hasonló útvonalait célzó terápiás stratégiák kifejlesztésében.

Organism Emberi

Tissue Tüdő

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

Jellemzők

Age Magzat

Gender Férfi

Ethnicity Afrikai

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation HEL-299 (Cytion katalógusszám: 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2480

HEL-299 sejtek | 300193

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	M2 muskarin receptor
Protein expression	P53 negatív
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Hólyagos szájgyulladás (Indiana), poliovírus 1
Reverse transcriptase	Negatív
Karyotype	Normál emberi hím, diploid, stabil

A kezelése

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion cikkszám 820600a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 1 ng/mL bFGF-fel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1×10^4 sejt/cm ²
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm ² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

HEL-299 sejtek | 300193

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HEL-299 sejtek | 300193

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.