

HEL-299 ląstelės | 300193

Bendra informacija

Description

HEL-299 yra žmogaus plaučių fibroblastų ląstelių linija, gauta iš suaugusio žmogaus. Ši ląstelių linija ypač išsiskiria ribotu gebėjimu daugintis kultūroje, paprastai ji sensta maždaug po dešimties ciklų. Dėl šios savybės HEL-299 yra naudingas ląstelių senėjimo ir senėjimo, taip pat ląstelių augimo ir dauginimosi dinamikos kontroliuojamomis sąlygomis tyrimo modelis.

Be to, kad HEL-299 gali būti naudojama senėjimo tyrimams, ji taip pat yra signalų perdavimo kelių tyrimo modelis. Konkrečiai, pastebėta, kad M2 muskarino receptoriaus raiška šiose ląstelėse sumažėja po stimuliacijos baltymų kinaze C. Ši reakcija pabrėžia ląstelių linijos naudingumą farmakologiniuose tyrimuose ir tiriant mechanizmus, kuriais grindžiamas receptorių perduodamas signalas ir reguliavimas. Receptoriaus raiškos pokytis po kinazės veiklos gali padėti suprasti ląstelių atsaką į išorinius dirgiklius, o tai gali padėti kurti terapines strategijas, nukreiptas į panašius kelius sergant įvairiomis ligomis.

Organism Žmogus

Tissue Plaučiai

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

Charakteristikos

Age Vaisius

Gender Vyras

Ethnicity Afrikos

Growth properties Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation HEL-299 (Cytion katalogo numeris 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2480

HEL-299 ląstelės | 300193

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	M2 muskarino receptoriai
Protein expression	P53 neigiamas
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Vezikulinis stomatitas (Indiana), poliovirusas 1
Reverse transcriptase	Neigiamas
Karyotype	Normalus diploidinis, stabilus, diploidinis žmogus

Tvarkymas

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilus glutaminas, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820600a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 1 ng/ml bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1×10^4 ląstelės/cm ²
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm ² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

HEL-299 ląstelės | 300193

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HEL-299 ląstelės | 300193

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.