

HEL-299 šūnas | 300193

Vispārīga informācija

Description

HEL-299 ir cilvēka plaušu fibroblastu šūnu līnija, kas iegūta no pieaugušiem cilvēkiem. Šī šūnu līnija īpaši izceļas ar savu ierobežoto spēju pavairoties kultūrā, parasti pēc aptuveni desmit pasāžām tā sāk novecot. Šī īpašība padara HEL-299 par noderīgu modeli šūnu novecošanās un novecošanas, kā arī šūnu augšanas un replikācijas dinamikas pētījumiem kontrolētos apstākļos.

Papildus pielietojumam novecošanās pētījumos HEL-299 kalpo arī kā modelis signālu pārnese ceļu izpētei. Konkrēti, ir novērots, ka M2 muskarīna receptora ekspresija šajās šūnās samazinās pēc stimulācijas ar proteīnkināzi C. Šī reakcija uzsvēr šūnu līnijas lietderību farmakoloģiskajos pētījumos un receptoru mediētās signalizācijas un regulācijas mehānismu izpētē. Receptora ekspresijas izmaiņas pēc kināzes aktivitātes var sniegt ieskatu šūnu reakcijās uz ārējiem stimuliem, potenciāli palīdzot izstrādāt terapeitiskās stratēģijas, kas vērstas uz līdzīgiem ceļiem dažādu slimību gadījumos.

Organism Cilvēks

Tissue Plaušas

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

Raksturojums

Age Auglis

Gender Vīrieši

Ethnicity Āfrikas

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation HEL-299 (Cytion kataloga numurs 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2480

HEL-299 šūnas | 300193

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	M2 muskarīna receptors
Protein expression	P53 negatīvs
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Vezikulārais stomatīts (Indiana), poliovīruss 1
Reverse transcriptase	Negatīvs
Karyotype	Normāls diploīds, diploīds, stabils cilvēks

Darbs ar

Culture Medium	Hama F12, w: 1,0 mM stabils glutamīns, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820600a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS, 1 ng/ml bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1×10^4 šūnas/cm ²
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izklidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm ² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

HEL-299 šūnas | 300193

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HEL-299 šūnas | 300193

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.