

HEL-299 Cellen | 300193

Algemene informatie

Description

HEL-299 is een menselijke longfibroblastcellijn afkomstig van een volwassen individu. Deze cellijn is vooral bekend om zijn eindige capaciteit om zich voort te planten in kweek, waarbij senescentie optreedt na ongeveer tien passages. Dit kenmerk maakt HEL-299 een nuttig model voor het bestuderen van cellulaire veroudering en senescentie, evenals de dynamiek van celgroei en replicatie onder gecontroleerde omstandigheden.

Naast de toepassingen in verouderingsonderzoek, dient HEL-299 ook als model voor het bestuderen van signaaltransductiepaden. Er is met name waargenomen dat de expressie van de M2 muscarine receptor in deze cellen wordt gedownreguleerd na stimulatie met proteïne kinase C. Deze respons benadrukt het nut van de cellijn voor farmacologisch onderzoek en voor het onderzoeken van mechanismen die ten grondslag liggen aan receptorgemedieerde signalering en regulatie. De verandering in receptorexpressie na kinaseactiviteit kan inzicht geven in cellulaire reacties op externe prikkels, wat mogelijk kan helpen bij de ontwikkeling van therapeutische strategieën die zich richten op vergelijkbare pathways bij verschillende ziekten.

Organism Mens

Tissue Long

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

Kenmerken

Age Foetus

Gender Mannelijk

Ethnicity Afrikaans

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation HEL-299 (Cytion catalogusnummer 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2480

HEL-299 Cellen | 300193

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed	M2 muscarine receptor
Protein expression	P53 negatief
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Vesiculaire stomatitis (Indiana), poliovirus 1
Reverse transcriptase	Negatief
Karyotype	Normaal mannelijk, diploïd, stabiel

Omgaan met

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiele Glutamine, w: 1,0 mM natriumpyruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820600a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS, 1 ng/mL bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:2 tot 1:4 wordt aanbevolen
Seeding density	1×10^4 cellen/cm ²
Post-Thaw Recovery	Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 c ^{ellen} /cm ² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

HEL-299 Cellen | 300193

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HEL-299 Cellen | 300193

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 7,10
D13S317: 11,12
D16S539: 10,11
D5S818: 11,13
D7S820: 8,11
TH01: 7
TPOX: 8,12
vWA: 16
D3S1358: 16
D21S11: 28,31.2
D18S51: 14,17
Penta E: 5,12
Penta D: 2.2,9
D8S1179: 14,15
FGA: 24,25
PEZ6: H4