

HEL-299-celler | 300193

Generell informasjon

Description

HEL-299 er en human lungefibroblastcellelinje som stammer fra et voksent individ. Denne cellelinjen er spesielt kjent for sin begrensede evne til å formere seg i kultur, og går vanligvis inn i senescens etter omtrent ti passeringer. Denne egenskapen gjør HEL-299 til en nyttig modell for studier av cellulær aldring og senescens, samt dynamikken i cellevekst og -replikasjon under kontrollerte forhold.

I tillegg til å kunne brukes i aldringsforskning, fungerer HEL-299 også som en modell for å studere signaltransduksjonsveier. Det er spesielt observert at uttrykket av M2-muskarinreseptoren i disse cellene nedreguleres etter stimulering med proteinkinase C. Denne responsen fremhever cellelinjens nytteverdi i farmakologisk forskning og i undersøkelser av mekanismer som ligger til grunn for reseptormediert signalering og regulering. Endringen i reseptoruttrykket som følge av kinaseaktivitet kan gi innsikt i cellulære responser på ytre stimuli, noe som potensielt kan bidra til utvikling av terapeutiske strategier rettet mot lignende signalveier i ulike sykdommer.

Organism

Menneskelig

Tissue

Lunge

Synonyms

HEL 299, Hel-299, Hel 299, HEL299

Kjennetegn

Age

Foster

Gender

Mann

Ethnicity

Afrikansk

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

HEL-299 (Cytion katalognummer 300193)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2480

HEL-299-celler | 300193

Biomolekylære data

Receptors expressed	M2 muskarinreseptor
Protein expression	P53 negativ
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Vesikulær stomatitt (Indiana), poliovirus 1
Reverse transcriptase	Negativ
Karyotype	Normalt mannlig menneske, diploid, stabil

Håndtering

Culture Medium	Ham's F12, m: 1,0 mM stabil glutamin, m: 1,0 mM natriumpyruvat, m: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820600a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS, 1 ng/mL bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales
Seeding density	1×10^4 celler/cm ²
Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm ² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

HEL-299-celler | 300193

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HEL-299-celler | 300193

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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