

Komórki HEL-299 | 300193

Informacje ogólne

Description

HEL-299 to ludzka linia komórkowa fibroblastów płuc pochodzących od dorosłego osobnika. Ta linia komórkowa jest szczególnie znana ze swojej ograniczonej zdolności do rozmnażania się w hodowli, zazwyczaj wchodząc w okres starzenia po około dziesięciu pasażach. Ta cecha sprawia, że HEL-299 jest użytecznym modelem do badania starzenia się i starzenia się komórek, a także dynamiki wzrostu i replikacji komórek w kontrolowanych warunkach.

Oprócz zastosowań w badaniach nad starzeniem, HEL-299 służy również jako model do badania szlaków transdukcji sygnału. W szczególności zaobserwowano, że ekspresja receptora muskarynowego M2 w tych komórkach jest obniżona po stymulacji kinazą białkową C. Ta odpowiedź podkreśla użyteczność linii komórkowej w badaniach farmakologicznych oraz w badaniu mechanizmów leżących u podstaw sygnalizacji i regulacji za pośrednictwem receptora. Zmiana ekspresji receptora po aktywności kinazy może zapewnić wgląd w odpowiedzi komórkowe na bodźce zewnętrzne, potencjalnie pomagając w opracowaniu strategii terapeutycznych ukierunkowanych na podobne szlaki w różnych chorobach.

Organism Człowiek

Tissue Płuco

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

Charakterystyka

Age Płód

Gender Mężczyzna

Ethnicity Afrykański

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation HEL-299 (numer katalogowy Cytion 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellSaurusAccession CVCL_2480

Komórki HEL-299 | 300193

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Receptor muskarynowy M2
Protein expression	P53 ujemny
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (Indiana), wirus polio 1
Reverse transcriptase	Negatywny
Karyotype	Normalny ludzki mężczyzna, diploidalny, stabilny

Obsługa

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnej glutaminy, w: 1,0 mM pirogronianu sodu, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820600a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 1 ng/ml bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4
Seeding density	1×10^4 kom ^{órek} /cm ²
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Komórki HEL-299 | 300193**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki HEL-299 | 300193

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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