

HEL-299-celler | 300193

Allmän information

Description

HEL-299 är en human lungfibroblastcellinje som härrör från en vuxen individ. Denna cellinje är särskilt känd för sin begränsade förmåga att föröka sig i odling, och går vanligtvis in i senescens efter cirka tio passager. Denna egenskap gör HEL-299 till en användbar modell för att studera cellulärt åldrande och senescens, liksom dynamiken i celltillväxt och replikation under kontrollerade förhållanden.

Utöver tillämpningarna inom åldrandeforskningen fungerar HEL-299 också som en modell för att studera signalöverföringsvägar. Specifikt har man observerat att uttrycket av den muskarina M2-receptorn i dessa celler nedregleras efter stimulering med proteinkinas C. Detta svar belyser cellinjens användbarhet inom farmakologisk forskning och vid undersökning av mekanismer som ligger till grund för receptormedierad signalering och reglering. Förändringen i receptoruttryck efter kinasaktivitet kan ge insikter i cellers svar på yttre stimuli, vilket potentiellt kan bidra till utvecklingen av terapeutiska strategier som riktar in sig på liknande vägar i olika sjukdomar.

Organism Människan

Tissue Lungan

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

Egenskaper

Age Foster

Gender Man

Ethnicity Afrikanska

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation HEL-299 (Cytion katalognummer 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2480

HEL-299-celler | 300193

Biomolekylära data

Receptors expressed	M2 muskarinreceptor
Protein expression	P53-negativ
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Vesikulär stomatit (Indiana), poliovirus 1
Reverse transcriptase	Negativt
Karyotype	Normal människa, man, diploid, stabil

Hantering

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilt glutamin, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820600a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS, 1 ng/ml bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:2 till 1:4 rekommenderas
Seeding density	1×10^4 celler/cm ²
Post-Thaw Recovery	Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm ² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

HEL-299-celler | 300193

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HEL-299-celler | 300193

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmediagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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