

Bunky HEL-299 | 300193**Všeobecné informácie****Description**

HEL-299 je ľudská bunková línia pľúcnych fibroblastov odvodená od dospelého jedinca. Táto bunková línia sa vyznačuje najmä svojou obmedzenou schopnosťou rozmnožovania v kultúre, pričom zvyčajne po približne desiatich pasážach vstupuje do senescencie. Vďaka tejto vlastnosti je HEL-299 užitočným modelom na štúdium bunkového starnutia a senescencie, ako aj dynamiky rastu a replikácie buniek za kontrolovaných podmienok.

Okrem využitia vo výskume starnutia slúži HEL-299 aj ako model na štúdium signálnych transdukčných dráh. Konkrétne sa zistilo, že expresia muskarínového receptora M2 v týchto bunkách je znížená po stimulácii proteínkinázou C. Táto reakcia zdôrazňuje užitočnosť bunkovej línie vo farmakologickom výskume a pri skúmaní mechanizmov, ktoré sú základom signalizácie a regulácie sprostredkovanej receptormi. Zmena expresie receptora po kinázovej aktivite môže poskytnúť poznatky o reakciách buniek na vonkajšie podnety, čo môže pomôcť pri vývoji terapeutických stratégií zameraných na podobné dráhy pri rôznych ochoreniach.

Organism Ľudské**Tissue** Pľúca**Synonyms** HEL 299, Hel-299, Hel 299, HEL299**Charakteristika****Age** Plod**Gender** Muži**Ethnicity** African**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** HEL-299 (katalógové číslo Cytion 300193)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2480

Bunky HEL-299 | 300193**Biomolekulárne údaje**

Receptors expressed	M2 muskarínový receptor
Protein expression	P53 negatívny
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Vesikulárna stomatitída (Indiana), poliovírus 1
Reverse transcriptase	Negatívne
Karyotype	Normálny ľudský samec, diploidný, stabilný

Spracovanie

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilný glutamín, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion číslo výrobku 820600a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS, 1 ng/ml bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	1 x 10 ⁴ buniek/cm ²
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10 ⁴ buniek/cm ² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Bunky HEL-299 | 300193

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HEL-299 | 300193

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.