

Celice HEL-299 | 300193

Splošne informacije

Description

HEL-299 je celična linija človeških pljučnih fibroblastov, pridobljena iz odraslega posameznika. Ta celična linija je še posebej znana po svoji omejeni zmožnosti razmnoževanja v kulturi, saj po približno desetih prehodih običajno postane senescentna. Zaradi te lastnosti je HEL-299 uporaben model za preučevanje celičnega staranja in senescence ter dinamike celične rasti in razmnoževanja v nadzorovanih pogojih.

Poleg uporabe v raziskavah staranja je HEL-299 tudi model za preučevanje poti prenosa signalov. Natančneje, ugotovljeno je bilo, da se izražanje muskarinskega receptorja M2 v teh celicah zniža po stimulaciji s protein kinazo C. Ta odziv poudarja uporabnost celične linije v farmakoloških raziskavah in pri raziskovanju mehanizmov, ki so podlaga za signalizacijo in regulacijo, posredovano z receptorji. Spremembe v izražanju receptorja po kinazni aktivnosti lahko omogočijo vpogled v celične odzive na zunanje dražljaje, kar lahko pomaga pri razvoju terapevtskih strategij, usmerjenih na podobne poti pri različnih boleznih.

Organism Človek

Tissue Pljuča

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

Značilnosti

Age Plod

Gender Moški

Ethnicity Afriški

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation HEL-299 (katalogska številka Cytion 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2480

Celice HEL-299 | 300193

Biomolekularni podatki

Receptors expressed	M2 muskarinski receptor
Protein expression	P53 negativen
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Vesikularni stomatitis (Indiana), poliovirus 1
Reverse transcriptase	Negativni
Karyotype	Normalni človeški moški, diploidni, stabilen

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnega glutamina, w: 1,0 mM natrijevega piruvata, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820600a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 1 ng/ml bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	1×10^4 celic/cm ²
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel ^{ic} /cm ² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Celice HEL-299 | 300193

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice HEL-299 | 300193

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.