

## 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

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

## Ravnanje s spletno stranjo

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnega glutamina, w: 1,0 mM natrijevega piruvata, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (številka izdelka Cytion 820600a)
<b>Supplements</b>	Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 1 ng/ml bFGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ celic/cm <sup>2</sup>
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti $5 \times 10^4$ cel <sup>ic</sup> /cm <sup>2</sup> 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 %  $\text{CO}_2$ , 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 izključuje 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.