

## Клітини HEL-299 | 300193

## Загальна інформація

## Description

HEL-299 - це клітинна лінія легеневих фібробластів людини, отримана від дорослої людини. Ця клітинна лінія особливо відома своєю обмеженою здатністю до розмноження в культурі, зазвичай вона вступає в стадію старіння приблизно після десяти пасажів. Ця характеристика робить HEL-299 корисною моделлю для вивчення клітинного старіння і старіння, а також динаміки клітинного росту і реплікації в контрольованих умовах.

Окрім застосування в дослідженнях старіння, HEL-299 також слугує моделлю для вивчення шляхів передачі сигналу. Зокрема, було виявлено, що експресія мускаринового рецептора M2 в цих клітинах знижується після стимуляції протеїнкіназою C. Ця реакція підкреслює корисність клітинної лінії для фармакологічних досліджень та вивчення механізмів, що лежать в основі рецепторно-опосередкованої сигналізації та регуляції. Зміна експресії рецепторів під впливом кіназної активності може дати уявлення про реакції клітин на зовнішні подразники, що потенційно може допомогти у розробці терапевтичних стратегій, спрямованих на подібні шляхи при різних захворюваннях.

**Organism** Людина

**Tissue** Легені

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

## Характеристики

**Age** Плід

**Gender** Чоловік

**Ethnicity** Африканський

**Growth properties** Адепт

## Нормативні дані

**Citation** HEL-299 (номер за каталогом Cytion 300193)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellSaurusAccession** CVCL\_2480

## Клітини HEL-299 | 300193

## Біомолекулярні дані

<b>Receptors expressed</b>	M2 мускариновий рецептор
<b>Protein expression</b>	P53 негативний
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, A
<b>Virus susceptibility</b>	Везикулярний стоматит (Індіана), поліовірус 1
<b>Reverse transcriptase</b>	Негативно
<b>Karyotype</b>	Нормальний людський чоловік, диплоїдний, стабільний

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, w: 1,0 мМ стабільний глютамін, w: 1,0 мМ піруват натрію, w: 1,1 г/л NaHCO <sub>3</sub> (Cytion артикул 820600a)
<b>Supplements</b>	Додайте до середовища 10% FBS, 1 нг/мл bFGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Аккутаза
<b>Subculturing</b>	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ клітин/см <sup>2</sup>
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Після розморожування висійте клітини з щільністю $5 \times 10^4$ клітин/см <sup>2</sup> і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

## Клітини HEL-299 | 300193

**Freeze medium**

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Hi

## Клітини HEL-299 | 300193

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.