

Cellules HEL-299 | 300193

Informations générales

Description

HEL-299 est une lignée cellulaire de fibroblastes pulmonaires humains dérivée d'un individu adulte. Cette lignée cellulaire est particulièrement connue pour sa capacité limitée à se propager en culture, entrant généralement en sénescence après environ dix passages. Cette caractéristique fait de HEL-299 un modèle utile pour l'étude du vieillissement cellulaire et de la sénescence, ainsi que de la dynamique de la croissance et de la réplication cellulaires dans des conditions contrôlées.

Outre ses applications dans la recherche sur le vieillissement, HEL-299 sert également de modèle pour l'étude des voies de transduction des signaux. En particulier, il a été observé que l'expression du récepteur muscarinique M2 dans ces cellules est régulée à la baisse après stimulation par la protéine kinase C. Cette réponse souligne l'utilité de la lignée cellulaire dans la recherche pharmacologique et dans l'étude des mécanismes sous-jacents à la signalisation et à la régulation médiées par les récepteurs. L'altération de l'expression du récepteur suite à l'activité de la kinase peut fournir des informations sur les réponses cellulaires à des stimuli externes, ce qui pourrait contribuer au développement de stratégies thérapeutiques ciblant des voies similaires dans diverses maladies.

Organism Humain

Tissue Poumon

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

Caractéristiques

Age Foetus

Gender Homme

Ethnicity Africains

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation HEL-299 (numéro de catalogue Cytion 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Cellules HEL-299 | 300193

CellosaurusAccession CVCL_2480

Données biomoléculaires

Receptors expressed Récepteur muscarinique M2**Protein expression** P53 négatif**Isoenzymes** G6PD, A**Virus susceptibility** Stomatite vésiculaire (Indiana), poliovirus 1**Reverse transcriptase** Négatif**Karyotype** Homme normal, diploïde, stable

Manipulation

Culture Medium Ham's F12, w : 1.0 mM Glutamine stable, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium, w : 1.1 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820600a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS, 1 ng/mL de bFGF**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** Un rapport de 1:2 à 1:4 est recommandé**Seeding density** 1×10^4 cellules/cm²

Cellules HEL-299 | 300193

Post-Thaw Recovery

Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules HEL-299 | 300193

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

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