

Cellule HEL-299 | 300193

Informazioni generali

Description

HEL-299 è una linea cellulare di fibroblasti polmonari umani derivati da un individuo adulto. Questa linea cellulare è particolarmente nota per la sua capacità limitata di propagarsi in coltura, entrando tipicamente in senescenza dopo circa dieci passaggi. Questa caratteristica rende HEL-299 un modello utile per lo studio dell'invecchiamento cellulare e della senescenza, nonché delle dinamiche di crescita e replicazione cellulare in condizioni controllate.

Oltre alle applicazioni nella ricerca sull'invecchiamento, la HEL-299 serve anche come modello per studiare le vie di trasduzione del segnale. In particolare, è stato osservato che l'espressione del recettore muscarinico M2 in queste cellule è downregolata in seguito alla stimolazione con la proteina chinasi C. Questa risposta evidenzia l'utilità della linea cellulare nella ricerca farmacologica e nello studio dei meccanismi alla base della segnalazione e della regolazione mediata dal recettore. L'alterazione dell'espressione del recettore in seguito all'attività della chinasi può fornire indicazioni sulle risposte cellulari a stimoli esterni, favorendo potenzialmente lo sviluppo di strategie terapeutiche mirate a percorsi simili in varie malattie.

Organism Umano

Tissue Polmone

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

Caratteristiche

Age Feto

Gender Uomo

Ethnicity Africano

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation HEL-299 (numero di catalogo Cytion 300193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2480

Cellule HEL-299 | 300193

Dati biomolecolari

Receptors expressed	Recettore muscarinico M2
Protein expression	P53 negativo
Isoenzymes	G6PD, A
Virus susceptibility	Stomatite vescicolare (Indiana), poliovirus 1
Reverse transcriptase	Negativo
Karyotype	Maschio umano normale, diploide, stabile

Manipolazione

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM di glutammina stabile, w: 1,0 mM di piruvato di sodio, w: 1,1 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820600a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 1 ng/mL bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:4
Seeding density	1 x 10 ⁴ cellule/cm ²
Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5 x 10 ⁴ cellule/cm ² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Cellule HEL-299 | 300193

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HEL-299 | 300193

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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