

Cellules HEL-299 | 300193

Renseignements généraux

Description

HEL-299 est une lignée cellulaire de fibroblastes pulmonaires humains issue d'un individu adulte. Cette lignée cellulaire se distingue notamment par sa capacité limitée à se multiplier en culture; elle entre généralement en sénescence après environ dix passages. Cette caractéristique fait de la 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.

En plus de ses applications dans la recherche sur le vieillissement, HEL-299 sert également de modèle pour l'étude des voies de transduction du signal. Plus précisément, on a observé que l'expression du récepteur muscarinique M2 dans ces cellules est régulée à la baisse à la suite d'une stimulation par la protéine kinase C. Cette réponse met en évidence 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. La modification de l'expression des récepteurs à la suite de l'activité de la kinase peut fournir des indications sur les réponses cellulaires aux stimuli externes, ce qui pourrait contribuer à l'élaboration 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 africain

Growth properties Adepté

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 vésiculeuse (Indiana), poliovirus 1
Reverse transcriptase	Négatif
Karyotype	Homme normal, diploïde, stable

Manipulation

Culture Medium	F12 de Ham, contenant : 1,0 mM de glutamine stable, 1,0 mM de pyruvate de sodium, 1,1 g/L de NaHCO ₃ (référence Cytion 820600a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 ng/mL de bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	1 × 10 ⁴ cellules/cm ²
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemercer les cellules à une densité de 5 × 10 ⁴ cellules/cm ² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Cellules HEL-299 | 300193

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HEL-299 | 300193

Storage Conditions

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

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

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

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.