

**Células HEL-299 | 300193****Información general****Description**

HEL-299 es una línea celular de fibroblastos pulmonares humanos derivada de un individuo adulto. Esta línea celular destaca especialmente por su capacidad finita de propagación en cultivo, entrando típicamente en senescencia tras aproximadamente diez pases. Esta característica convierte a HEL-299 en un modelo útil para estudiar el envejecimiento celular y la senescencia, así como la dinámica del crecimiento y la replicación celular en condiciones controladas.

Además de sus aplicaciones en la investigación del envejecimiento, HEL-299 también sirve como modelo para estudiar las vías de transducción de señales. Concretamente, se ha observado que la expresión del receptor muscarínico M2 en estas células se regula a la baja tras la estimulación con proteína quinasa C. Esta respuesta pone de relieve la utilidad de la línea celular en la investigación farmacológica y en la investigación de los mecanismos subyacentes a la señalización y regulación mediadas por receptores. La alteración de la expresión del receptor tras la actividad de la cinasa puede aportar información sobre las respuestas celulares a estímulos externos, lo que podría contribuir al desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a vías similares en diversas enfermedades.

**Organism** Humano**Tissue** Pulmón**Synonyms** HEL 299, Hel-299, Hel 299, HEL299**Características****Age** Feto**Gender** Hombre**Ethnicity** Africano**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios****Citation** HEL-299 (número de catálogo 300193 de Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606

**Células HEL-299 | 300193**

CellosaurusAccession CVCL\_2480

**Datos biomoleculares****Receptors expressed** Receptor muscarínico M2**Protein expression** P53 negativo**Isoenzymes** G6PD, A**Virus susceptibility** Estomatitis vesicular (Indiana), poliovirus 1**Reverse transcriptase** Negativo**Karyotype** Varón humano normal, diploide, estable**Manejo de****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM Glutamina estable, w: 1,0 mM Piruvato sódico, w: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion número de artículo 820600a)**Supplements** Suplementar el medio con 10% FBS, 1 ng/mL bFGF**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:2 a 1:4**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

## Células HEL-299 | 300193

### Post-Thaw Recovery

Después de descongelar, siembre las células a  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> y deje que las células se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.

### Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmósfera humidificada.

### Flask Coating

Ninguno

## Células HEL-299 | 300193

### Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

### Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

## Control de calidad / Perfil genético / HLA

### Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

### Perfil de 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