

**Células HEL-299 | 300193****Informações gerais****Description**

A HEL-299 é uma linha celular de fibroblastos pulmonares humanos derivada de um indivíduo adulto. Esta linha celular é particularmente conhecida pela sua capacidade finita de propagação em cultura, entrando tipicamente em senescência após aproximadamente dez passagens. Esta característica faz da HEL-299 um modelo útil para estudar o envelhecimento e a senescência celular, bem como a dinâmica do crescimento e da replicação celular em condições controladas.

Para além das suas aplicações na investigação do envelhecimento, o HEL-299 serve também de modelo para o estudo das vias de transdução de sinais. Especificamente, observou-se que a expressão do recetor muscarínico M2 nestas células é desregulada após estimulação com a proteína quinase C. Esta resposta realça a utilidade da linha celular na investigação farmacológica e na investigação dos mecanismos subjacentes à sinalização e regulação mediadas pelo recetor. A alteração da expressão dos receptores após a atividade da quinase pode fornecer informações sobre as respostas celulares a estímulos externos, ajudando potencialmente no desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visem vias semelhantes em várias doenças.

**Organism** Humano**Tissue** Pulmão**Synonyms** HEL 299, Hel-299, Hel 299, HEL299**Caraterísticas****Age** Feto**Gender** Masculino**Ethnicity** Africano**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** HEL-299 (número de catálogo Cytion 300193)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_2480

**Células HEL-299 | 300193****Dados biomoleculares**

<b>Receptors expressed</b>	Recetor muscarínico M2
<b>Protein expression</b>	P53 negativo
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, A
<b>Virus susceptibility</b>	Estomatite vesicular (Indiana), poliovírus 1
<b>Reverse transcriptase</b>	Negativo
<b>Karyotype</b>	Homem normal, diploide, estável

**Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, com: 1,0 mM de glutamina estável, com: 1,0 mM de piruvato de sódio, com: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820600a)
<b>Supplements</b>	Suplementar o meio com 10% de FBS, 1 ng/mL de bFGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup>
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de $5 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

## Células HEL-299 | 300193

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

## Células HEL-299 | 300193

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.