

## Celule HEL-299 | 300193

## Informații generale

## Description

HEL-299 este o linie celulară de fibroblast pulmonar uman derivată de la un individ adult. Această linie celulară se remarcă în special prin capacitatea sa limitată de propagare în cultură, intrând de obicei în senescență după aproximativ zece treceri. Această caracteristică face din HEL-299 un model util pentru studiul îmbătrânirii și senescenței celulare, precum și al dinamicii creșterii și replicării celulare în condiții controlate.

În plus față de aplicațiile sale în cercetarea îmbătrânirii, HEL-299 servește, de asemenea, ca model pentru studierea căilor de transducție a semnalului. În special, s-a observat că expresia receptorului muscarinic M2 în aceste celule este redusă în urma stimulării cu proteina kinază C. Acest răspuns evidențiază utilitatea liniei celulare în cercetarea farmacologică și în investigarea mecanismelor care stau la baza semnalizării și reglării mediate de receptor. Modificarea expresiei receptorului în urma activității kinazei poate oferi informații despre răspunsurile celulare la stimuli externi, putând contribui la dezvoltarea de strategii terapeutice care vizează căi similare în diferite boli.

**Organism** Om

**Tissue** Plămân

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

## Caracteristici

**Age** Fetusul

**Gender** Masculin

**Ethnicity** African

**Growth properties** Aderent

## Date de reglementare

**Citation** HEL-299 (număr de catalog Cytion 300193)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_2480

## Celule HEL-299 | 300193

## Date biomoleculare

<b>Receptors expressed</b>	Receptor muscarinic M2
<b>Protein expression</b>	P53 negativ
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, A
<b>Virus susceptibility</b>	Stomatită veziculară (Indiana), poliovirus 1
<b>Reverse transcriptase</b>	Negativ
<b>Karyotype</b>	Bărbat uman normal, diploid, stabil

## Manipulare

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, w: 1,0 mM glutamină stabilă, w: 1,0 mM piruvat de sodiu, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (număr articol Cytion 820600a)
<b>Supplements</b>	Suplimentați mediul cu 10% FBS, 1 ng/mL bFGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> celule/cm <sup>2</sup>
<b>Post-Thaw Recovery</b>	După decongelare, plasați celulele la 5 x 10 <sup>4</sup> celule/cm <sup>2</sup> și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

## Celule HEL-299 | 300193

### Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subkultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosferă umidificată.

### Flask Coating

Niciuna

### Freezing Procedure

Linii celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

## Celule HEL-299 | 300193

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.