

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 se destaca especialmente por su capacidad limitada para propagarse en cultivo, ya que suele entrar en senescencia después de aproximadamente diez pases. Esta característica convierte a la 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 sobre el envejecimiento, la HEL-299 también sirve como modelo para estudiar las vías de transducción de señales. Específicamente, se ha observado que la expresión del receptor muscarínico M2 en estas células se reduce tras la estimulación con la proteína quinasa C. Esta respuesta destaca la utilidad de la línea celular en la investigación farmacológica y en el estudio de los mecanismos subyacentes a la señalización y regulación mediadas por receptores. La alteración en la expresión del receptor tras la actividad de la quinasa 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 normativos****Citation** HEL-299 (número de catálogo de Cytion 300193)**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** Hombre humano normal, diploide, estable

Manejo

Culture Medium F12 de Ham, con: 1,0 mM de glutamina estable, con: 1,0 mM de piruvato de sodio, con: 1,1 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820600a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS y 1 ng/mL de bFGF**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.**Seeding density** 1×10^4 células/cm²**Post-Thaw Recovery** Después de descongelarlas, siembre las células a una densidad de 5×10^4 células/cm² y deje que se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.

Células HEL-299 | 300193

Freeze medium

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

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un 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 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Células HEL-299 | 300193

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.