

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

A HEL-299 é uma linhagem celular de fibroblastos pulmonares humanos derivada de um indivíduo adulto. Essa linhagem celular é particularmente conhecida por sua capacidade limitada de se propagar em cultura, entrando normalmente em senescência após aproximadamente dez passagens. Essa característica torna a HEL-299 um modelo útil para o estudo do envelhecimento celular e da senescência, bem como da dinâmica do crescimento e da replicação celular em condições controladas.

Além de suas aplicações na pesquisa sobre envelhecimento, a HEL-299 também serve como modelo para o estudo de vias de transdução de sinal. Especificamente, observou-se que a expressão do receptor muscarínico M2 nessas células é regulada para baixo após estimulação com a proteína quinase C. Essa resposta destaca a utilidade da linhagem celular na pesquisa farmacológica e na investigação dos mecanismos subjacentes à sinalização e regulação mediadas por receptores. A alteração na expressão do receptor após a atividade da quinase pode fornecer insights sobre as respostas celulares a estímulos externos, potencialmente auxiliando no desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas a vias semelhantes em várias doenças.

Organism Humano**Tissue** Pulmão**Synonyms** HEL 299, Hel-299, Hel 299, HEL299**Características****Age** Feto**Gender** Masculino**Ethnicity** africano**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** HEL-299 (número de catálogo da Cytion 300193)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2480

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

Receptors expressed Receptor muscarínico M2

Protein expression P53 negativo

Isoenzymes G6PD, A

Virus susceptibility Estomatite vesicular (Indiana), poliovírus 1

Reverse transcriptase Negativo

Karyotype Homem normal, diplóide, estável

Manuseio

Culture Medium F12 de Ham, contendo: 1,0 mM de glutamina estável, 1,0 mM de piruvato de sódio e 1,1 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion: 820600a)

Supplements Adicione ao meio 10% de FBS e 1 ng/mL de bFGF

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm²

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Células HEL-299 | 300193

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células HEL-299 | 300193

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.