

Cellules NCI-H1299 | 300485**Informations générales****Description**

Le NCI-H1299, également connu sous le nom de H1299, est une lignée cellulaire établie à partir d'une métastase du ganglion lymphatique du poumon d'un homme blanc de 43 ans atteint d'un carcinome. H1299 et H292 sont des lignées cellulaires de cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC).

En ce qui concerne leur profil génétique, les cellules H1299 présentent une délétion partielle homozygote de la protéine p53 et n'expriment pas la protéine p53. Alors que les mutations du gène KRAS sont courantes dans divers types de cancer, y compris les CBNPC, H1299 exprime le gène KRAS WT. A549 est une autre lignée cellulaire de CBNPC qui exprime de manière homozygote le KRAS G12S endogène.

Il est essentiel de comprendre la biologie de KRAS et ses voies de signalisation en aval pour développer des thérapies efficaces contre le cancer. C'est pourquoi cette lignée cellulaire de type épithélial est couramment utilisée dans la recherche sur le cancer et l'immuno-oncologie.

La morphologie des cellules H1299 se caractérise par des cellules adhérentes et aplaties d'une épaisseur inférieure à 5 microns. Les cellules H1299 ont un temps de doublement approximatif de 22 à 30 heures. Les cellules H1299 expriment la kératine et la vimentine mais sont négatives pour la protéine triplet du neurofilament.

Elles sont également capables de synthétiser le peptide neuromédine B (NMB) à 0,1 pmol/mg de protéine, mais pas le peptide de libération de la gastrine (GRP). Par rapport aux cellules A549 qui présentent des caractéristiques plus épithéliales, les cellules H1299 présentent des caractéristiques plus mésenchymateuses et une expression moins efficace des marqueurs épithéliaux.

Organism Humain**Tissue** Poumon**Disease** Carcinome**Synonyms** H1299, H-1299, NCIH1299**Caractéristiques****Age** 59 ans**Ethnicity** Caucasien**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires**

Cellules NCI-H1299 | 300485

Citation	NCI-H1299 (numéro de catalogue Cytion 300485)
----------	---

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0060
----------------------	-----------

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)
----------------	--

Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS, ajouter 2,5 g/L de glucose et 10 mM d'HEPES
-------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
--------------	--

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
---------------	------------------------

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.
---------------	--

Cellules NCI-H1299 | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.