

Cellule NCI-H1299 | 300485

Informazioni generali

Description

NCI-H1299, nota anche come H1299, è una linea cellulare ottenuta da una metastasi linfonodale del polmone di un paziente bianco di 43 anni affetto da carcinoma. H1299 e H292 sono linee cellulari di carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC).

Per quanto riguarda il loro profilo genetico, le cellule H1299 presentano una delezione parziale omozigote della proteina p53 e mancano di espressione della proteina p53. Mentre le mutazioni di KRAS sono comunemente riscontrate in vari tipi di cancro, compreso il NSCLC, H1299 esprime KRAS WT. A549 è un'altra linea cellulare NSCLC che esprime in modo omozigote KRAS G12S endogeno.

La comprensione della biologia di KRAS e delle sue vie di segnalazione a valle è fondamentale per sviluppare terapie antitumorali efficaci. Pertanto, questa linea cellulare di tipo epiteliale è comunemente utilizzata nella ricerca sul cancro e sull'immuno-oncologia.

La morfologia delle cellule H1299 è caratterizzata da cellule aderenti appiattite con uno spessore inferiore a 5 micron. Le cellule H1299 hanno un tempo di raddoppiamento approssimativo di 22-30 ore. Le cellule H1299 esprimono cheratina e vimentina, ma sono negative per la proteina triplete del neurofilamento.

Sono inoltre in grado di sintetizzare il peptide neuromedina B (NMB) a 0,1 pmol/mg di proteina, ma non il peptide di rilascio della gastrina (GRP). Rispetto alle cellule A549, con caratteristiche più epiteliali, le cellule H1299 hanno caratteristiche più mesenchimali e un'espressione di marcatori epiteliali meno efficace.

Organism Umano

Tissue Polmone

Disease Carcinoma

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Caratteristiche

Age 59 anni

Ethnicity Caucasico

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation NCI-H1299 (catalogo Cytion numero 300485)

Cellule NCI-H1299 | 300485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
----------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS, aggiungere 2,5 g/L di glucosio e 10 mM di HEPES
-------------	--

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

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
--------------	---

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
---------------	-------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
---------------	--

Cellule NCI-H1299 | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.