

Células NCI-H1299 | 300485

Informações gerais

Description

A NCI-H1299, também conhecida como H1299, é uma linha celular estabelecida a partir de uma metástase de nódulo linfático do pulmão de um doente branco de 43 anos com carcinoma. A H1299 e a H292 são linhas celulares de cancro do pulmão de células não pequenas (NSCLC).

Relativamente ao seu perfil genético, as células H1299 têm uma deleção parcial homozigótica da proteína p53 e não têm expressão da proteína p53. Embora as mutações KRAS sejam frequentemente encontradas em vários tipos de cancro, incluindo o NSCLC, a H1299 expressa KRAS WT. A549 é outra linha de células NSCLC que exprime homozigamente KRAS G12S endógeno.

A compreensão da biologia do KRAS e das suas vias de sinalização a jusante é crucial para o desenvolvimento de terapias eficazes contra o cancro. Por conseguinte, esta linha celular de tipo epitelial é habitualmente utilizada na investigação sobre o cancro e a imuno-oncologia.

A morfologia das células H1299 é caracterizada por células achatadas aderentes com uma espessura inferior a 5 microns. As células H1299 têm um tempo de duplicação aproximado de 22 a 30 horas. As células H1299 expressam queratina e vimentina, mas são negativas para a proteína triplete de neurofilamento.

Também se sabe que são capazes de sintetizar o péptido neuromedina B (NMB) a 0,1 pmol/mg de proteína, mas não o péptido libertador de gastrina (GRP). Em comparação com as células A549 com características mais epiteliais, as células H1299 têm características mais mesenquimatosas e uma expressão menos efectiva de marcadores epiteliais.

Organism

Humano

Tissue

Pulmão

Disease

Carcinoma

Synonyms

H1299, H-1299, NCIH1299

Caraterísticas

Age

59 anos

Ethnicity

Caucasiano

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Citation

NCI-H1299 (número de catálogo Cytion 300485)

Células NCI-H1299 | 300485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS, adicionar 2,5 g/L de glucose e 10 mM de HEPES
--------------------	--

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

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
---------------------	--

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
----------------------	---

Células NCI-H1299 | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.