

Células NCI-H1299 | 300485

Información general

Description

NCI-H1299, también conocida como H1299, es una línea celular establecida a partir de una metástasis en un ganglio linfático del pulmón de un paciente varón blanco de 43 años con carcinoma. H1299 y H292 son líneas celulares de cáncer de pulmón no microcítico (CPNM).

En cuanto a su perfil genético, las células H1299 presentan una delección parcial homocigótica de la proteína p53 y carecen de expresión de la proteína p53. Aunque las mutaciones de KRAS son frecuentes en varios tipos de cáncer, incluido el CPNM, H1299 expresa KRAS WT. A549 es otra línea celular de CPNM que expresa de forma homocigótica KRAS G12S endógeno.

Comprender la biología de KRAS y sus vías de señalización descendentes es crucial para desarrollar terapias eficaces contra el cáncer. Por ello, esta línea celular de tipo epitelial se utiliza habitualmente en la investigación del cáncer y la inmuno-oncología.

La morfología de las células H1299 se caracteriza por células aplanadas adherentes con un grosor inferior a 5 micras. Las células H1299 tienen un tiempo de duplicación aproximado de 22 - 30 horas. Las células H1299 expresan queratina y vimentina, pero son negativas para la proteína triplete de neurofilamentos.

También se sabe que son capaces de sintetizar el péptido neuromedina B (NMB) a 0,1 pmol/mg de proteína, pero no el péptido liberador de gastrina (GRP). En comparación con las células A549, con características más epiteliales, las células H1299 tienen características más mesenquimales y una expresión de marcadores epiteliales menos efectiva.

Organism Humano

Tissue Pulmón

Disease Carcinoma

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Características

Age 59 años

Ethnicity Caucásico

Growth properties Adherente

Datos reglamentarios

Citation NCI-H1299 (número de catálogo de Cytion 300485)

Células NCI-H1299 | 300485**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0060**Datos biomoleculares****Manejo de****Culture Medium** RPMI 1640, con: 2,0 mM de glutamina estable, con: 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820700a)**Supplements** Completar el medio con un 10% de FBS, añadir 2,5 g/L de glucosa y 10 mM de HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células NCI-H1299 | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el 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 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células NCI-H1299 | 300485

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.