

Células NCI-H1299 | 300485

Información general

Description

La línea celular NCI-H1299, también conocida como H1299, es una línea celular de cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) humano obtenida a partir de una metástasis en un ganglio linfático de un paciente adulto varón con carcinoma de pulmón. Junto con las células H292, la línea H1299 se utiliza ampliamente como modelo de CPCNP en la investigación sobre biología del cáncer e inmuno-oncología. La línea celular presenta una morfología de tipo epitelial caracterizada por células adherentes y aplanadas con un grosor inferior a 5 µm y 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, lo que refleja un fenotipo con características tanto epiteliales como mesenquimales.

Genéticamente, las células H1299 presentan una delección parcial homocigótica en el gen TP53, lo que da lugar a la pérdida completa de la expresión de la proteína p53. La línea también se caracteriza por un estado KRAS de tipo salvaje, lo que la distingue de otros modelos de CPCNP, como las células A549, que portan mutaciones endógenas de KRAS. Debido a la ausencia de señalización funcional de p53, combinada con un KRAS intacto, las células H1299 se utilizan con frecuencia para estudiar la biología de los supresores tumorales, las vías de señalización oncogénicas, la apoptosis, la metástasis y los mecanismos de resistencia terapéutica. En comparación con líneas celulares de CPCNP más epiteliales, como las A549, las células H1299 presentan un fenotipo más mesenquimal con una expresión reducida de marcadores epiteliales, lo que las hace especialmente útiles para investigar la transición epitelial a mesenquimal (EMT), la invasión y la progresión metastásica.

También se ha descrito que las células H1299 sintetizan el neuropéptido neuromedina B (NMB) en niveles bajos, mientras que carecen de una producción detectable del péptido liberador de gastrina (GRP). Sus sólidas características de crecimiento, su alta transfectabilidad y su fondo molecular bien caracterizado han contribuido a su amplio uso en estudios relacionados con terapias dirigidas, edición genética, citotoxicidad mediada por el sistema inmunitario y vías de señalización asociadas a KRAS en fases posteriores. Al igual que con todos los modelos de células tumorales cultivadas a largo plazo, se recomienda la autenticación y confirmación periódicas de las características moleculares clave para garantizar la reproducibilidad experimental.

Organism Humano

Tissue Pulmón

Disease Carcinoma

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Características

Age 59 años

Ethnicity Caucásico

Células NCI-H1299 | 300485

Growth properties	Adherente
--------------------------	-----------

Datos reglamentarios

Citation	NCI-H1299 (número de catálogo de Cytion 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 NaHCO ₃ (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.