

## Cellule NCI-H1299 | 300485

## Informazioni generali

## Description

La linea cellulare NCI-H1299, nota anche come H1299, è una linea cellulare derivata da un carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) umano, ottenuta da una metastasi linfonodale proveniente da un paziente maschio adulto affetto da carcinoma polmonare. Insieme alle cellule H292, la linea H1299 è ampiamente utilizzata come modello di NSCLC nella ricerca sulla biologia del cancro e nell'immuno-oncologia. La linea cellulare presenta una morfologia di tipo epiteliale caratterizzata da cellule aderenti e appiattite con uno spessore inferiore a 5 µm e un tempo di raddoppio approssimativo di 22-30 ore. Le cellule H1299 esprimono cheratina e vimentina, ma sono negative per la proteina tripletta dei neurofilamenti, riflettendo un fenotipo con caratteristiche sia epiteliali che mesenchimali.

Dal punto di vista genetico, le cellule H1299 presentano una delezione parziale omozigote nel gene TP53, con conseguente perdita completa dell'espressione della proteina p53. La linea è inoltre caratterizzata dallo stato KRAS wild-type, che la distingue da altri modelli di NSCLC come le cellule A549, che presentano mutazioni endogene del gene KRAS. A causa dell'assenza di una segnalazione p53 funzionale, combinata con un KRAS intatto, le cellule H1299 sono frequentemente utilizzate per studiare la biologia dei soppressori tumorali, le vie di segnalazione oncogeniche, l'apoptosi, le metastasi e i meccanismi di resistenza terapeutica. Rispetto a linee cellulari di NSCLC più epiteliali come l'A549, le cellule H1299 mostrano un fenotipo più mesenchimale con ridotta espressione dei marcatori epiteliali, rendendole particolarmente utili per le indagini sulla transizione epiteliale-mesenchimale (EMT), l'invasione e la progressione metastatica.

È stato inoltre riportato che le cellule H1299 sintetizzano il neuropeptide neuromedina B (NMB) a livelli bassi, mentre non producono gastrina-rilasciante peptide (GRP) rilevabile. Le loro caratteristiche di crescita robusta, l'elevata trasfettabilità e il background molecolare ben caratterizzato hanno contribuito al loro ampio utilizzo in studi che coinvolgono terapie mirate, editing genetico, citotossicità immuno-mediata e vie di segnalazione a valle associate a KRAS. Come per tutti i modelli di cellule tumorali coltivate a lungo termine, si raccomanda l'autenticazione periodica e la conferma delle caratteristiche molecolari chiave per garantire la riproducibilità sperimentale.

**Organism** Umano

**Tissue** Polmone

**Disease** Carcinoma

**Synonyms** H1299, H-1299, NCIH1299

## Caratteristiche

**Age** 59 anni

**Ethnicity** Caucasico

**Growth properties** Aderente

**Cellule NCI-H1299 | 300485****Dati normativi**

<b>Citation</b>	NCI-H1299 (catalogo Cytion numero 300485)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0060

**Dati biomolecolari****Manipolazione**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO <sub>3</sub> (articolo Cytion numero 820700a)
<b>Supplements</b>	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS, aggiungere 2,5 g/L di glucosio e 10 mM di HEPES
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Fluid renewal</b>	da 2 a 3 volte alla settimana
<b>Freeze medium</b>	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%<sub>CO2</sub>, atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Nessuno

### 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.

### 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.

## Cellule NCI-H1299 | 300485

### 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.