

Células NCI-H1299 | 300485

Informações gerais

Description

A NCI-H1299, também conhecida como H1299, é uma linha celular de cancro do pulmão de células não pequenas (NSCLC) humana, estabelecida a partir de uma metástase num gânglio linfático derivada de um doente adulto do sexo masculino com carcinoma pulmonar. Juntamente com as células H292, a H1299 é amplamente utilizada como modelo de NSCLC na investigação em biologia do cancro e imunooncologia. A linha celular apresenta uma morfologia de tipo epitelial, caracterizada por células aderentes e achatadas com uma espessura inferior a 5 µm e um tempo de duplicação aproximado de 22–30 horas. As células H1299 expressam queratina e vimentina, mas são negativas para a proteína triplete de neurofilamentos, refletindo um fenótipo com características tanto epiteliais como mesenquimais.

Geneticamente, as células H1299 apresentam uma deleção parcial homozigótica no gene TP53, resultando na perda completa da expressão da proteína p53. A linha é também caracterizada pelo estado KRAS de tipo selvagem, distinguindo-a de outros modelos de NSCLC, tais como as células A549, que apresentam mutações KRAS endógenas. Devido à ausência de sinalização funcional de p53, combinada com KRAS intacto, as células H1299 são frequentemente utilizadas para estudar a biologia dos supressores tumorais, vias de sinalização oncogénicas, apoptose, metástase e mecanismos de resistência terapêutica. Em comparação com linhas celulares de NSCLC mais epiteliais, como as A549, as células H1299 apresentam um fenótipo mais mesenquimal com expressão reduzida de marcadores epiteliais, tornando-as particularmente úteis para investigações sobre a transição epitelial-mesenquimal (EMT), invasão e progressão metastática.

Também foi relatado que as células H1299 sintetizam o neuropeptídeo neuromedina B (NMB) em níveis baixos, enquanto não apresentam produção detetável do peptídeo libertador de gastrina (GRP). As suas características de crescimento robusto, elevada transfectabilidade e contexto molecular bem caracterizado contribuíram para a sua ampla utilização em estudos envolvendo terapias direcionadas, edição genética, citotoxicidade imunomediada e vias de sinalização a jusante associadas ao KRAS. Tal como acontece com todos os modelos de células tumorais cultivadas a longo prazo, recomenda-se a autenticação e confirmação periódicas das principais características moleculares para garantir a reprodutibilidade experimental.

Organism Humano

Tissue Pulmão

Disease Carcinoma

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Caraterísticas

Age 59 anos

Ethnicity Caucasiano

Growth properties Aderente

Células NCI-H1299 | 300485**Dados regulamentares**

Citation	NCI-H1299 (número de catálogo Cytion 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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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

Nenhum

**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 inspeções visuais diárias.