

## 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<sub>3</sub> (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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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.