

Buňky NCI-H1299 | 300485**Obecné informace****Description**

NCI-H1299, známá také jako H1299, je buněčná linie vytvořená z metastázy lymfatické uzliny plic 43letého bělocha s karcinmem. H1299 a H292 jsou buněčné linie nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC).

Pokud jde o jejich genetický profil, buňky H1299 mají homozygotní částečnou delecii proteinu p53 a postrádají expresi proteinu p53. Zatímco mutace KRAS se běžně vyskytují u různých typů rakoviny, včetně NSCLC, H1299 exprimuje KRAS WT. A549 je další buněčná linie NSCLC, která homozygotně exprimuje endogenní KRAS G12S.

Pochopení biologie KRAS a jeho následných signálních drah je zásadní pro vývoj účinné léčby rakoviny. Proto se tato epiteliální buněčná linie běžně používá v onkologickém a imuno-onkologickém výzkumu.

Morfologie buněk H1299 se vyznačuje přiléhajícími zploštělými buňkami o tloušťce menší než 5 mikronů. Přibližná doba zdvojení buněk H1299 je 22-30 hodin. Buňky H1299 exprimují keratin a vimentin, ale jsou negativní pro neurofilamentový tripletový protein.

Uvádí se také, že jsou schopny syntetizovat peptid neuromedin B (NMB) v koncentraci 0,1 pmol/mg proteinu, ale ne peptid uvolňující gastrin (GRP). Ve srovnání s buňkami A549 s více epiteliálními vlastnostmi mají buňky H1299 více mezenchymálních vlastností a méně účinnou expresi epiteliálních markerů.

Organism Člověk**Tissue** Plíce**Disease** Karcinom**Synonyms** H1299, H-1299, NCIH1299**Charakteristika****Age** 59 let**Ethnicity** Kavkazský**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** NCI-H1299 (katalogové číslo Cytion 300485)**Biosafety level** 1

Buňky NCI-H1299 | 300485

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium 10% FBS, přidejte 2,5 g/l glukózy a 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky NCI-H1299 | 300485**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCI-H1299 | 300485

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.