

NCI-H1299-celler | 300485

Generel information

Description

NCI-H1299, også kendt som H1299, er en cellelinje, der er etableret fra en lymfeknudemetastase i lungen fra en 43-årig hvid mandlig patient med karcinom. H1299 og H292 er cellelinjer for ikke-småcellet lungekræft (NSCLC).

Hvad angår deres genetiske profil, har H1299-cellerne en homozygot partiel deletion af p53-proteinet og mangler ekspresion af p53-proteinet. Mens KRAS-mutationer ofte findes i forskellige typer kræft, herunder NSCLC, udtrykker H1299 KRAS WT. A549 er en anden NSCLC-cellelinje, der homozygot udtrykker endogen KRAS G12S.

At forstå KRAS' biologi og dens downstream-signalveje er afgørende for at udvikle effektive kræftbehandlinger. Derfor bruges denne epitellignende cellelinje ofte i kræft- og immunonkologisk forskning.

H1299-cellernes morfologi er kendetegnet ved klæbende, flade celler med en tykkelse på mindre end 5 mikrometer. H1299-celler har en omtrentlig fordoblingstid på 22-30 timer. H1299-celler udtrykker keratin og vimentin, men er negative for neurofilament-tripletprotein.

Det er også rapporteret, at de er i stand til at syntetisere peptidet neuromedin B (NMB) ved 0,1 pmol/mg protein, men ikke det gastrin-frigørende peptid (GRP). Sammenlignet med A549-celler med mere epiteliale egenskaber har H1299-celler mere mesenkymale egenskaber og mindre effektivt udtryk for epiteliale markører.

Organism Menneske

Tissue Lunge

Disease Karcinom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Karakteristika

Age 59 år

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation NCI-H1299 (Cytion katalognummer 300485)

Biosafety level 1

NCI-H1299-celler | 300485

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Supplér mediet med 10 % FBS, tilsæt 2,5 g/L glukose og 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

NCI-H1299-celler | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NCI-H1299-celler | 300485

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.