

NCI-H1299-celler | 300485

Generel information

Description

NCI-H1299, også kendt som H1299, er en human cellelinje for ikke-småcellet lungekræft (NSCLC), der er etableret ud fra en lymfeknudemetastase fra en voksen mandlig patient med lungekræft. Sammen med H292-celler anvendes H1299 i vid udstrækning som en NSCLC-model inden for kræftbiologi og immuno-onkologisk forskning. Cellelinjen udviser en epitel-lignende morfologi karakteriseret ved adhærente, flade celler med en tykkelse på mindre end 5 µm og en omtrentlig fordoblingstid på 22–30 timer. H1299-celler udtrykker keratin og vimentin, men er negative for neurofilament-tripletprotein, hvilket afspejler en fænotype med både epitel- og mesenkymale karakteristika.

Genetisk set har H1299-celler en homozygot delvis deletion i TP53-genet, hvilket resulterer i et fuldstændigt tab af p53-proteinekspression. Linjen er også karakteriseret ved vildtype KRAS-status, hvilket adskiller den fra andre NSCLC-modeller såsom A549-celler, som bærer endogene KRAS-mutationer. På grund af fraværet af funktionel p53-signalering kombineret med intakt KRAS anvendes H1299-celler hyppigt til at studere tumorsuppressorbiologi, onkogene signalveje, apoptose, metastase og terapeutiske resistensmekanismer. Sammenlignet med mere epiteliale NSCLC-cellelinjer såsom A549 udviser H1299-celler en mere mesenkymalt fænotype med reduceret ekspression af epitelmarkører, hvilket gør dem særligt anvendelige til undersøgelser af epitel-til-mesenkym-overgang (EMT), invasion og metastatisk progression.

Det er også rapporteret, at H1299-celler syntetiserer neuropeptidet neuromedin B (NMB) i lave niveauer, mens de mangler påviselig produktion af gastrinfrigivende peptid (GRP). Deres robuste vækstkaraktistika, høje transfekterbarhed og velkarakteriserede molekulære baggrund har bidraget til deres brede anvendelse i studier, der involverer målrettede terapier, genredigering, immunmedieret cytotoxicitet og nedstrøms KRAS-associerede signalveje. Som med alle langvarigt dyrkede tumorcellemodeller anbefales periodisk autentificering og bekræftelse af centrale molekulære egenskaber for at sikre eksperimentel reproducerbarhed.

Organism Menneske

Tissue Lunge

Disease Karcinom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Karakteristika

Age 59 år

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

NCI-H1299-celler | 300485

Citation NCI-H1299 (Cytion katalognummer 300485)**Biosafety level** 1**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 løse dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere 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 osmobeskyttende 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.