

NCI-H1299-Zellen | 300485

Allgemeine Informationen

Description

NCI-H1299, auch bekannt als H1299, ist eine menschliche Zelllinie für nicht-kleinzelligen Lungenkrebs (NSCLC), die aus einer Lymphknotenmetastase eines erwachsenen männlichen Patienten mit Lungenkarzinom gewonnen wurde. Zusammen mit H292-Zellen wird H1299 in der Krebsbiologie und der immunonkologischen Forschung häufig als NSCLC-Modell eingesetzt. Die Zelllinie weist eine epithelähnliche Morphologie auf, die durch adhärenzte, abgeflachte Zellen mit einer Dicke von weniger als 5 µm und einer Verdopplungszeit von etwa 22–30 Stunden gekennzeichnet ist. H1299-Zellen exprimieren Keratin und Vimentin, sind jedoch negativ für Neurofilament-Triplet-Protein, was einen Phänotyp mit sowohl epithelialen als auch mesenchymalen Merkmalen widerspiegelt.

Genetisch weisen H1299-Zellen eine homozygote partielle Deletion im TP53-Gen auf, was zu einem vollständigen Verlust der p53-Proteinexpression führt. Die Linie zeichnet sich zudem durch einen Wildtyp-KRAS-Status aus, was sie von anderen NSCLC-Modellen wie den A549-Zellen unterscheidet, die endogene KRAS-Mutationen tragen. Aufgrund des Fehlens funktioneller p53-Signalwege in Kombination mit intaktem KRAS werden H1299-Zellen häufig zur Untersuchung der Tumorsuppressorbiologie, onkogener Signalwege, Apoptose, Metastasierung und therapeutischer Resistenzmechanismen verwendet. Im Vergleich zu eher epithelialen NSCLC-Zelllinien wie A549 weisen H1299-Zellen einen eher mesenchymalen Phänotyp mit reduzierter Expression epithelialer Marker auf, was sie besonders nützlich für Untersuchungen zur epithelial-mesenchymalen Transition (EMT), Invasion und metastatischen Progression macht.

Es wurde auch berichtet, dass H1299-Zellen das Neuropeptid Neuromedin B (NMB) in geringen Mengen synthetisieren, während eine nachweisbare Produktion des Gastrin-freisetzenden Peptids (GRP) fehlt. Ihre robusten Wachstumseigenschaften, ihre hohe Transfektierbarkeit und ihr gut charakterisierter molekularer Hintergrund haben zu ihrer breiten Verwendung in Studien zu zielgerichteten Therapien, Genbearbeitung, immunvermittelter Zytotoxizität und nachgeschalteten KRAS-assoziierten Signalwegen beigetragen. Wie bei allen langfristig kultivierten Tumorzellmodellen werden eine regelmäßige Authentifizierung und die Bestätigung der wichtigsten molekularen Merkmale empfohlen, um die Reproduzierbarkeit der Experimente sicherzustellen.

Organism Menschen

Tissue Lunge

Disease Karzinom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Merkmale

Age 59 Jahre

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Adhärenz

NCI-H1299-Zellen | 300485

Regulatorische Daten

Citation	NCI-H1299 (Cytion-Katalognummer 300485)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10 % FBS, fügen Sie 2,5 g/L Glukose und 10 mM HEPES hinzu
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

NCI-H1299-Zellen | 300485

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

**Freezing
Procedure**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

NCI-H1299-Zellen | 300485

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.