

NCI-H1299-Zellen | 300485

Allgemeine Informationen

Description

NCI-H1299, auch bekannt als H1299, ist eine Zelllinie, die aus einer Lymphknotenmetastase der Lunge eines 43-jährigen weißen männlichen Patienten mit Karzinom gewonnen wurde. H1299 und H292 sind Zelllinien für nicht-kleinzelligen Lungenkrebs (NSCLC).

Was ihr genetisches Profil betrifft, so weisen H1299-Zellen eine homozygote partielle Deletion des p53-Proteins auf und besitzen keine Expression des p53-Proteins. Während KRAS-Mutationen bei verschiedenen Krebsarten, einschließlich NSCLC, häufig vorkommen, exprimiert H1299 KRAS WT. A549 ist eine weitere NSCLC-Zelllinie, die homozygot endogenes KRAS G12S exprimiert.

Das Verständnis der Biologie von KRAS und seiner nachgeschalteten Signalwege ist entscheidend für die Entwicklung wirksamer Krebstherapien. Daher wird diese epithelialähnliche Zelllinie häufig in der Krebs- und Immunonkologieforschung eingesetzt.

Die Morphologie der H1299-Zellen ist durch anhaftende, abgeflachte Zellen mit einer Dicke von weniger als 5 Mikrometern gekennzeichnet. H1299-Zellen haben eine ungefähre Verdopplungszeit von 22 bis 30 Stunden. H1299-Zellen exprimieren Keratin und Vimentin, sind aber negativ für das Neurofilament-Triplet-Protein.

Sie sind auch in der Lage, das Peptid Neuromedin B (NMB) in einer Menge von 0,1 pmol/mg Protein zu synthetisieren, nicht aber das Gastrin-freisetzende Peptid (GRP). Im Vergleich zu A549-Zellen mit eher epithelialen Merkmalen weisen H1299-Zellen eher mesenchymale Merkmale und eine weniger effektive Expression von Epithelmarkern auf.

Organism Menschen

Tissue Lunge

Disease Karzinom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Merkmale

Age 59 Jahre

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation NCI-H1299 (Cytion-Katalognummer 300485)

NCI-H1299-Zellen | 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 NaHCO₃ (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 adhären 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $300 \times g$, 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 adhärennten 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% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.