

NCI-H1299 rakud | 300485

Üldine teave

Description

NCI-H1299, tuntud ka kui H1299, on rakuliin, mis on loodud 43-aastase valge meessoost kopsu lümfisõlmede metastaasidest, mis pärinevad kopsukartsinoomiga patsiendilt. H1299 ja H292 on mitteväikerakk-kopsuvähi (NSCLC) rakuliinid.

Nende geneetilise profiili osas on H1299 rakkudel homosügootne p53 valgu osaline deletsioon ja neil puudub p53 valgu ekspressioon. Kuigi KRAS-mutatsioone leidub sageli erinevat tüüpi vähkkasvajate, sealhulgas mitte-kolleteopaatilise vähktõve puhul, ekspresseerib H1299 KRAS WT. A549 on teine NSCLC rakuliin, mis ekspresseerib homosügootselt endogeenset KRAS G12S.

KRASi ja selle allavoolu signaaliradade bioloogia mõistmine on tõhusate vähiravimite väljatöötamiseks väga oluline. Seetõttu kasutatakse seda epiteelilaadset rakuliini tavaliselt vähi ja immunonkoloogia uuringutes.

H1299 rakkude morfoloogiat iseloomustavad kleepuvad lamedad rakud, mille paksus on alla 5 mikroni. H1299 rakkude ligikaudne kahekordistumisaeg on 22-30 tundi. H1299 rakud ekspresseerivad keratiini ja vimentini, kuid on negatiivsed neurofilamentide kolmikvalgu suhtes.

Samuti on teatatud, et nad on võimelised sünteesima peptiidi neuromediin B (NMB) 0,1 pmol/mg valku, kuid mitte gastriini vabastavat peptiidi (GRP). Võrreldes rohkem epiteeliomadusi omavate A549 rakkudega on H1299 rakud rohkem mesenhüümiomadusi ja vähem efektiivset epiteeli markerite ekspressiooni.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Kartsinoom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Omadused

Age 59 aastat

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation NCI-H1299 (Cytioni katalooginumber 300485)

Biosafety level 1

NCI-H1299 rakud | 300485

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga, lisada 2,5 g/l glükoosi ja 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NCI-H1299 rakud | 300485

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCI-H1299 rakud | 300485

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.