Product sheet

NCI-H1299-cellen | 300485

Algemene informatie

Description	NCI-H1299, ook bekend als H1299, is een menselijke celijn van niet-kleincellige longkanker (NSCLC) die is geïsoleerd uit een lymfekliermetastase van een volwassen mannelijke patiënt met longcarcinoom. Samen met H292-cellen wordt H1299 op grote schaal gebruikt als NSCLC-model in onderzoek op het gebied van kankerbiologie en immuno-oncologie. De cellijn vertoont een epitheelachtige morfologie die wordt gekenmerkt door hechtende, afgeplatte cellen met een dikte van minder dan 5 µm en een verdubbelingstijd van ongeveer 22–30 uur. H1299-cellen brengen keratine en vimentine tot expressie, maar zijn negatief voor neurofilament-triplet-eiwit, wat een fenotype weerspiegelt met zowel epitheliale als mesenchymale kenmerken. Genetisch gezien vertonen H1299-cellen een homozygote partiële deletie in het TP53-gen, wat resulteert in een volledig verlies van p53-eiwitexpressie. De lijn wordt ook gekenmerkt door een wildtype KRAS-status, waardoor deze zich onderscheidt van andere NSCLC-modellen zoals A549-cellen, die endogene KRAS-mutaties dragen. Vanwege de afwezigheid van functionele p53-signalering in combinatie met intact KRAS, worden H1299-cellen vaak gebruikt voor onderzoek naar tumorsuppressorbiologie, oncogene signaalroutes, apoptose, metastase en mechanismen van therapeutische resistentie. In vergelijking met meer epitheliale NSCLC-cellijnen zoals A549 vertonen H1299-cellen een meer mesenchymale fenotype met verminderde expressie van epitheliale markers, waardoor ze bijzonder nuttig zijn voor onderzoek naar epitheliale-naar-mesenchymale transitie (EMT), invasie en metastatische progressie. Er is ook gemeld dat H1299-cellen het neuropeptide neuromedine B (NMB) in lage concentraties synthetiseren, terwijl er geen detecteerbare productie van gastrine-afgevend peptide (GRP) plaatsvindt. Hun robuuste groeikenmerken, hoge transfectie-eigenschappen en goed gekarakteriseerde moleculaire achtergrond hebben bijgedragen aan hun brede toepassing in studies met betrekking tot gerichte therapieën, genbewerking, immuungemedieerde cytotoxiciteit en KRAS-geassocieerde signaalroutes. Zoals bij alle langdurig gekweekte tumorcelmodellen wordt periodieke authenticatie en bevestiging van belangrijke moleculaire kenmerken aanbevolen om de reproduceerbaarheid van experimenten te waarborgen.
Organism	Mens
Tissue	Long
Disease	Carcinoom
Synonyms	H1299, H-1299, NCIH1299

Kenmerken

Age	59 jaar
Ethnicity	Kaukasisch
Growth properties	Aanhangend

NCI-H1299-cellen | 300485

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS, voeg 2,5 g/L glucose en 10 mM HEPES toe
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

NCI-H1299-cellen | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.