

NCI-H1299-celler | 300485

Generell informasjon

Description

NCI-H1299, også kjent som H1299, er en cellelinje fra ikke-småcellet lungekreft (NSCLC) hos mennesker, etablert fra en lymfeknute-metastase hentet fra en voksen mannlig pasient med lungekreft. Sammen med H292-celler er H1299 mye brukt som en NSCLC-modell i forskning innen kreftbiologi og immuno-onkologi. Cellelinjen har en epitelignende morfologi preget av vedheftende, flate celler med en tykkelse på mindre enn 5 µm og en omtrentlig doblingstid på 22–30 timer. H1299-celler uttrykker keratin og vimentin, men er negative for neurofilament-tripletprotein, noe som gjenspeiler en fenotype med både epiteliale og mesenkymale egenskaper.

Genetisk har H1299-celler en homozygot delvis delesjon i TP53-genet, noe som resulterer i fullstendig tap av p53-proteinekspressjon. Linjen er også preget av villtype KRAS-status, noe som skiller den fra andre NSCLC-modeller som A549-celler, som bærer endogene KRAS-mutasjoner. På grunn av fraværet av funksjonell p53-signalering kombinert med intakt KRAS, brukes H1299-celler ofte til å studere tumorsuppressorbiologi, onkogene signalveier, apoptose, metastase og mekanismer for terapeutisk resistens. Sammenlignet med mer epiteliale NSCLC-cellelinjer som A549, viser H1299-celler en mer mesenkymalt fenotype med redusert epitelmarkøruttrykk, noe som gjør dem spesielt nyttige for undersøkelser av epitel-til-mesenkymalt overgang (EMT), invasjon og metastatisk progresjon.

Det er også rapportert at H1299-celler syntetiserer neuropeptidet neuromedin B (NMB) i lave nivåer, mens de mangler påvisbar produksjon av gastrinfrigivende peptid (GRP). Deres robuste vekstegenskaper, høye transfeksjonsevne og velkarakteriserte molekylære bakgrunn har bidratt til deres brede bruk i studier som involverer målrettede terapier, genredigering, immunmediert cytotoxicitet og nedstrøms KRAS-assosierte signalveier. Som med alle langtidsdyrkede tumorcellemodeller, anbefales periodisk autentisering og bekreftelse av viktige molekylære egenskaper for å sikre eksperimentell reproducerbarhet.

Organism Menneskelig

Tissue Lunge

Disease Karsinom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Kjennetegn

Age 59 år

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Vedhengende

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 artikkelnummer 820700a)

Supplements Suppler med 10 % FBS, tilsett 2,5 g/L glukose og 10 mM HEPES

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

NCI-H1299-celler | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCI-H1299-celler | 300485

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.