

Komórki NCI-H1299 | 300485

Informacje ogólne

Description

NCI-H1299, znana również jako H1299, to linia komórkowa utworzona z przerzutu do węzła chłonnego płuca od 43-letniego białego mężczyzny z rakiem. H1299 i H292 to linie komórkowe niedrobnokomórkowego raka płuc (NSCLC).

Jeśli chodzi o ich profil genetyczny, komórki H1299 mają homozygotyczną częściową delecję białka p53 i brak ekspresji białka p53. Podczas gdy mutacje KRAS są powszechnie spotykane w różnych typach raka, w tym w NSCLC, H1299 wykazuje ekspresję KRAS WT. A549 to kolejna linia komórkowa NSCLC, która homozygotycznie wyraża endogenny KRAS G12S.

Zrozumienie biologii KRAS i jego dalszych szlaków sygnałowych ma kluczowe znaczenie dla opracowania skutecznych terapii przeciwnowotworowych. Dlatego też ta linia komórek przypominająca nabłonek jest powszechnie stosowana w badaniach nad rakiem i immuno-onkologią.

Morfologia komórek H1299 charakteryzuje się przylegającymi, spłaszczonymi komórkami o grubości mniejszej niż 5 mikronów. Przybliżony czas podwojenia liczby komórek H1299 wynosi 22-30 godzin. Komórki H1299 wykazują ekspresję keratyny i wimentyny, ale są ujemne pod względem białka tripletowego neurofilamentu.

Są one również zdolne do syntezy peptydu neuromedyny B (NMB) w ilości 0,1 pmol/mg białka, ale nie peptydu uwalniającego gastrynę (GRP). W porównaniu z komórkami A549 o bardziej nabłonkowych cechach, komórki H1299 mają bardziej mezenchymalne cechy i mniej efektywną ekspresję markerów nabłonkowych.

Organism Człowiek

Tissue Płuco

Disease Rak

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Charakterystyka

Age 59 lat

Ethnicity Kaukaski

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation NCI-H1299 (numer katalogowy Cytion 300485)

Komórki NCI-H1299 | 300485

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0060**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic pożywkę 10% FBS, dodac 2,5 g/l glukozy i 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki NCI-H1299 | 300485**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.