

NCI-H1299-celler | 300485

Allmän information

Description

NCI-H1299, även känd som H1299, är en cellinje som etablerats från en lymfkörtelmetastas i lungan från en 43-årig vit manlig patient med carcinom. H1299 och H292 är cellinjer för icke-småcellig lungcancer (NSCLC).

Vad gäller deras genetiska profil har H1299-cellerna en homozygot partiell deletion av p53-proteinet och saknar uttryck av p53-protein. KRAS-mutationer är vanligt förekommande i olika typer av cancer, inklusive NSCLC, men H1299 uttrycker KRAS WT. A549 är en annan NSCLC-cellinje som homozygot uttrycker endogen KRAS G12S.

Att förstå KRAS biologi och dess nedströms signalvägar är avgörande för att utveckla effektiva cancerbehandlingar. Därför används denna epitelliknande cellinje ofta inom cancer- och immunonkologisk forskning.

Morfologin hos H1299-cellerna kännetecknas av vidhäftande, platta celler med en tjocklek på mindre än 5 mikrometer. H1299-celler har en ungefärlig fördubblingstid på 22-30 timmar. H1299-celler uttrycker keratin och vimentin men är negativa för neurofilament triplet protein.

De rapporteras också kunna syntetisera peptiden neuromedin B (NMB) vid 0,1 pmol/mg protein men inte den gastrinfrisättande peptiden (GRP). Jämfört med A549-celler med mer epiteliala egenskaper har H1299-celler mer mesenkymala egenskaper och mindre effektivt uttryck av epiteliala markörer.

Organism Människan

Tissue Lungan

Disease Carcinom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Egenskaper

Age 59 år

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation NCI-H1299 (Cytion katalognummer 300485)

Biosafety level 1

NCI-H1299-celler | 300485

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS, tillsätt 2,5 g/L glukos och 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

NCI-H1299-celler | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NCI-H1299-celler | 300485

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.