

Bunky NCI-H1299 | 300485**Všeobecné informácie****Description**

NCI-H1299, známa aj ako H1299, je bunková línia vytvorená z metastáz lymfatických uzlín pľúc 43-ročného muža bielej pleti s karcinómom. H1299 a H292 sú bunkové línie nemalobunkového karcinómu pľúc (NSCLC).

Pokiaľ ide o ich genetický profil, bunky H1299 majú homozygotnú čiastočnú deléciu proteínu p53 a nemajú expresiu proteínu p53. Zatiaľ čo mutácie KRAS sa bežne vyskytujú v rôznych typoch rakoviny vrátane NSCLC, H1299 exprimuje KRAS WT. A549 je ďalšia bunková línia NSCLC, ktorá homozygotne exprimuje endogénny KRAS G12S.

Pochopenie biológie KRAS a jeho nadväzujúcich signálnych dráh je kľúčové pre vývoj účinnej liečby rakoviny. Preto sa táto epitelu podobná bunková línia bežne používa v onkologickom a imuno-onkologickom výskume.

Morfológia buniek H1299 sa vyznačuje priliehajúcimi sploštenými bunkami s hrúbkou menšou ako 5 mikróvov. Bunky H1299 majú približný čas zdvojenia 22 - 30 hodín. Bunky H1299 exprimujú keratín a vimentín, ale sú negatívne pre neurofilamentový tripletový proteín.

Uvádza sa tiež, že sú schopné syntetizovať peptid neuromedín B (NMB) v množstve 0,1 pmol/mg proteínu, ale nie peptid uvoľňujúci gastrín (GRP). V porovnaní s bunkami A549 s viac epitelovými vlastnosťami majú bunky H1299 viac mezenchymálnych vlastností a menej účinnú expresiu epitelových markerov.

Organism Ľudské**Tissue** Pľúca**Disease** Karcinóm**Synonyms** H1299, H-1299, NCIH1299**Charakteristika****Age** 59 rokov**Ethnicity** Kaukazský**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** NCI-H1299 (katalógové číslo Cytion 300485)**Biosafety level** 1

Bunky NCI-H1299 | 300485**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0060**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS, pridajte 2,5 g/l glukózy a 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCI-H1299 | 300485

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.