Product sheet

Клетки NCI-H1299 | 300485

Обща информация

Description	NCI-H1299, известен също като H1299, е клетъчна линия, създадена от метастаза в лимфен възел на белия дроб от 43-годишен бял пациент с карцином. H1299 и H292 са клетъчни линии за недребноклетъчен рак на белия дроб (НДКБД). Що се отнася до генетичния им профил, клетките H1299 имат хомозиготна частична делеция на протеина p53 и не експресират протеина p53. Въпреки че мутациите на KRAS са често срещани при различни видове рак, включително NSCLC, H1299 експресира KRAS WT. A549 е друга клетъчна линия на NSCLC, която хомозиготно експресира ендогенния KRAS G12S. Разбирането на биологията на KRAS и неговите сигнални пътища надолу по веригата е от решаващо значение за разработването на ефективни терапии за рак. Поради това тази епителноподобна клетъчна линия се използва често в изследванията на рака и имуноонкологията. Морфологията на клетките H1299 се характеризира с прилепнали сплескани клетки с дебелина, по-малка от 5 микрона. Клетките H1299 имат приблизително време за удвояване 22-30 часа. Клетките H1299 експресират кератин и виментин, но са отрицателни за неврофиламентен триплетен протеин. Съобщава се също, че те са в състояние да синтезират пептида невромедин B (NMB) в концентрация 0,1 pmol/mg протеин, но не и пептида, освобождаващ гастрин (GRP). В сравнение с клетките A549 с по-епителни характеристики, клетките H1299 имат по-мезенхимни характеристики и по-слабо ефективна експресия на епителни маркери.
Organism	Човек
Tissue	Бял дроб
Disease	Карцином
Synonyms	H1299, H-1299, NCIH1299

Характеристики

Age	59 години
Ethnicity	Кавказки
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	NCI-H1299 (каталожен номер 300485 на Cytion)

Клетки NCI-H1299 | 300485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, добавете 2,5 g/L глюкоза и 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCI-H1299 | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.