

NCI-H1299 sejtek | 300485

Általános információk

Description

Az NCI-H1299, más néven H1299 egy 43 éves fehér férfi karcinómás beteg tüdő nyirokcsomó-metasztázisából létrehozott sejtvonal. A H1299 és a H292 nem kissejtes tüdőrák (NSCLC) sejtvonalak.

Genetikai profiljukat tekintve a H1299 sejtek homozigóta részlegesen deletálták a p53 fehérjét, és nem expresszálódik a p53 fehérje. Míg a KRAS-mutációk gyakran előfordulnak különböző ráktípusokban, beleértve az NSCLC-t is, a H1299 a KRAS WT-t fejezi ki. Az A549 egy másik NSCLC sejtvonal, amely homozigóta endogén KRAS G12S-t expresszál.

A KRAS biológiájának és az azt követő jelátviteli útvonalaknak a megértése kulcsfontosságú a hatékony rákterápiák kifejlesztéséhez. Ezért ezt az epithelszerű sejtvonalat gyakran használják a rák és az immunonkológiai kutatásokban.

A H1299 sejtek morfológiáját az 5 mikronnál kisebb vastagságú, lapos, tapadó sejtek jellemzik. A H1299 sejtek megközelítőleg 22-30 óra között duplázódnak. A H1299 sejtek keratint és vimentint expresszálnak, de negatívak a neurofilament triplet proteinre.

Arról is beszámoltak, hogy képesek a neuromedin B (NMB) peptidet szintetizálni 0,1 pmol/mg fehérje mennyiségben, de a gasztrin-felszabadító peptidet (GRP) nem. Az inkább epitheliális jellemzőkkel rendelkező A549 sejtekhez képest a H1299 sejtek inkább mesenchymális jellemzőkkel és kevésbé hatékony epitheliális marker expresszióval rendelkeznek.

Organism

Emberi

Tissue

Tüdő

Disease

Karcinóma

Synonyms

H1299, H-1299, NCIH1299

Jellemzők

Age

59 év

Ethnicity

Kaukázusi

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

NCI-H1299 (Cytion katalógusszám: 300485)

NCI-H1299 sejtek | 300485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
----------------	---

Supplements	Egészítsük ki a táptalajt 10% FBS-szel, adjunk hozzá 2,5 g/l glükózt és 10 mM HEPES-t
-------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
--------------	---

Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
---------------	------------------------

Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.
---------------	--

NCI-H1299 sejtek | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCI-H1299 sejtek | 300485

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.