

NCI-H1299 ląstelės | 300485

Bendra informacija

Description

NCI-H1299, dar žinoma kaip H1299, yra ląstelių linija, sukurta iš 43 metų baltojo vyro, sergančio plaučių karcinoma, limfmazgio metastazės. H1299 ir H292 yra nesmulkiąstelinio plaučių vėžio (NSLPV) ląstelių linijos.

Kalbant apie jų genetinį profilį, H1299 ląstelės turi homozigotinę dalinę p53 baltymo deleciją ir neturi p53 baltymo ekspresijos. Nors KRAS mutacijos dažnai aptinkamos įvairių tipų vėžiuose, įskaitant NSLPV, H1299 ląstelėse yra KRAS WT. A549 yra kita NSLPV ląstelių linija, kurioje homozigotinė endogeninė KRAS G12S ekspresija.

Norint sukurti veiksmingus vėžio gydymo būdus, labai svarbu suprasti KRAS biologiją ir jos tolesnius signalizacijos kelius. Todėl ši į epitelį panaši ląstelių linija dažnai naudojama vėžio ir imunoonkologijos tyrimuose.

H1299 ląstelių morfologijai būdingos prigludusios plokščios ląstelės, kurių storis mažesnis nei 5 mikronai. H1299 ląstelių padvigubėjimo laikas yra maždaug 22-30 valandų. H1299 ląstelės ekspresuoja keratiną ir vimentiną, tačiau neurofilamentų tripleto baltymas yra neigiamas.

Taip pat pranešama, kad jos gali sintetinti peptidą neuromediną B (NMB), kurio koncentracija yra 0,1 pmol/mg baltymo, bet ne gastriną atpalaiduojantį peptidą (GRP). Lyginant su A549 ląstelėmis, turinčiomis daugiau epitelinių savybių, H1299 ląstelės pasižymi daugiau mezenchiminių savybių ir mažiau veiksminga epitelio žymenų raiška.

Organism Žmogus

Tissue Plaučiai

Disease Karcinoma

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Charakteristikos

Age 59 metai

Ethnicity Kaukaziečių

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation NCI-H1299 (Cytion katalogo numeris 300485)

NCI-H1299 ląstelės | 300485

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
----------------	--

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, pridėkite 2,5 g/l gliukozės ir 10 mM HEPES
-------------	--

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

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
--------------	---

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
---------------	------------------------

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
---------------	---

NCI-H1299 ląstelės | 300485

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NCI-H1299 ląstelės | 300485

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.