

Celice NCI-H1299 | 300485

Splošne informacije

Description

NCI-H1299, znana tudi kot H1299, je celična linija, pridobljena iz metastaz v bezgavkah pljuč 43-letnega belca s karcinomom. H1299 in H292 sta celični liniji nedrobnoceličnega pljučnega raka (NSCLC).

Glede na genetski profil imajo celice H1299 homozigotno delno delecijo beljakovine p53 in ne izražajo beljakovine p53. Čeprav so mutacije KRAS pogosto prisotne pri različnih vrstah raka, vključno z NSCLC, H1299 izraža KRAS WT. A549 je še ena celična linija NSCLC, ki homozigotno izraža endogeni KRAS G12S.

Razumevanje biologije KRAS in njegovih signalnih poti je ključnega pomena za razvoj učinkovitih načinov zdravljenja raka. Zato se ta epitelijam podobna celična linija pogosto uporablja v raziskavah raka in imunoonkologiji.

Za morfologijo celic H1299 so značilne zlepljene sploščene celice z debelino manj kot 5 mikronov. Približni čas podvojitve celic H1299 je 22-30 ur. Celice H1299 izražajo keratin in vimentin, vendar so negativne za nevrofilamentni tripletni protein.

Poročajo tudi, da lahko sintetizirajo peptid nevromedin B (NMB) v koncentraciji 0,1 pmol/mg proteina, ne pa tudi peptida, ki sprošča gastrin (GRP). V primerjavi s celicami A549 z bolj epitelijskimi značilnostmi imajo celice H1299 bolj mezenhimske značilnosti in manj učinkovito izražanje epitelijskih označevalcev.

Organism Človek**Tissue** Pljuča**Disease** Karcinom**Synonyms** H1299, H-1299, NCIH1299

Značilnosti

Age 59 let**Ethnicity** Kavkaški**Growth properties** Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation NCI-H1299 (kataloška številka Cytion 300485)**Biosafety level** 1

Celice NCI-H1299 | 300485

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Biomolekularni podatki

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišču dodajte 10 % FBS, 2,5 g/l glukoze in 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice NCI-H1299 | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NCI-H1299 | 300485

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.