

NCI-H1299 Hücreleri | 300485

Genel bilgi

Description

H1299 olarak da bilinen NCI-H1299, 43 yaşında karsinomlu beyaz bir erkek hastanın akciğer lenf nodu metastazından oluşturulan bir hücre hattıdır. H1299 ve H292 küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSCLC) hücre hatlarıdır.

Genetik profillerine bakıldığında, H1299 hücreleri p53 proteininin homozigot kısmi delesyonuna sahiptir ve p53 proteininin ekspresyonundan yoksundur. KRAS mutasyonları, NSCLC dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde yaygın olarak bulunurken, H1299 KRAS WT'yi ifade eder. A549, endojen KRAS G12S'yi homozigot olarak eksprese eden başka bir NSCLC hücre hattıdır.

KRAS'ın biyolojisini ve aşağı yönlü sinyal yollarını anlamak, etkili kanser tedavileri geliştirmek için çok önemlidir. Bu nedenle, bu epitel benzeri hücre hattı kanser ve immüno-onkoloji araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

H1299 hücrelerinin morfolojisi, 5 mikrondan daha az kalınlığa sahip yapışık düzleşmiş hücrelerle karakterize edilir. H1299 hücrelerinin yaklaşık ikiye katlanma süresi 22 - 30 saattir. H1299 hücreleri keratin ve vimentin eksprese eder ancak nörofilament üçlü protein için negatiftir.

Ayrıca 0,1 pmol/mg proteinde nöromedin B (NMB) peptidini sentezleyebildikleri ancak gastrin salgılatıcı peptidi (GRP) sentezleyemedikleri bildirilmiştir. Daha epitelyal özelliklere sahip A549 hücreleri ile karşılaştırıldığında, H1299 hücreleri daha mezenkimal özelliklere ve daha az etkili epitelyal belirteç ifadesine sahiptir.

Organism

İnsan

Tissue

Akciğer

Disease

Karsinom

Synonyms

H1299, H-1299, NCIH1299

Özellikler

Age

59 yıl

Ethnicity

Kafkas

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

NCI-H1299 (Cytion katalog numarası 300485)

NCI-H1299 Hücreleri | 300485

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Biyomoleküler Veriler

Elleçleme

Culture Medium RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile destekleyin, 2,5 g/L glukoz ve 10 mM HEPES ekleyin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

NCI-H1299 Hücreleri | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

NCI-H1299 Hücreleri | 300485

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.