

Tế bào NCI-H1299 | 300485

Thông tin chung

Description

NCI-H1299, còn được gọi là H1299, là dòng tế bào được thiết lập từ khối u di căn hạch bạch huyết của phổi từ một bệnh nhân nam da trắng 43 tuổi bị ung thư biểu mô. H1299 và H292 là các dòng tế bào ung thư phổi không phải tế bào nhỏ (NSCLC).

Về mặt di truyền, tế bào H1299 có sự thiếu hụt một phần đồng hợp tử của protein p53 và không biểu hiện protein p53. Trong khi đột biến KRAS thường được tìm thấy trong nhiều loại ung thư, bao gồm NSCLC, H1299 biểu hiện KRAS WT. A549 là một dòng tế bào NSCLC khác có biểu hiện đồng hợp tử của KRAS G12S nội sinh.

Hiểu rõ sinh học của KRAS và các con đường tín hiệu hạ lưu của nó là điều quan trọng để phát triển các liệu pháp ung thư hiệu quả. Do đó, dòng tế bào có đặc điểm biểu mô này thường được sử dụng trong nghiên cứu ung thư và miễn dịch ung thư.

Hình thái của tế bào H1299 được đặc trưng bởi các tế bào bám dính, phẳng với độ dày dưới 5 micron. Tế bào H1299 có thời gian nhân đôi khoảng 22 - 30 giờ. Tế bào H1299 biểu hiện keratin và vimentin nhưng âm tính với protein neurofilament triplet.

Chúng cũng được báo cáo là có khả năng tổng hợp peptit neuromedin B (NMB) với nồng độ 0,1 pmol/mg protein nhưng không tổng hợp peptit giải phóng gastrin (GRP). So với dòng tế bào A549 có đặc điểm biểu mô rõ rệt hơn, tế bào H1299 có đặc điểm trung mô nhiều hơn và biểu hiện các dấu hiệu biểu mô kém hiệu quả hơn.

Organism

Con người

Tissue

Phổi

Disease

Ung thư biểu mô

Synonyms

H1299, H-1299, NCIH1299

Đặc điểm

Age

59 năm

Ethnicity

Người da trắng

Growth properties

Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation

NCI-H1299 (Số catalog Cytion 300485)

Biosafety level

1

Tế bào NCI-H1299 | 300485

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Dữ liệu sinh học phân tử

Xử lý

Culture Medium RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L NaHCO₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)**Supplements** Bổ sung vào môi trường 10% FBS, thêm 2,5 g/L glucose và 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần**Freeze medium** Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào NCI-H1299 | 300485

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.