

Клетки NCI-H1299 | 300485

Обща информация

Description

NCI-H1299, известна също като H1299, е клетъчна линия от човешки недребноклетъчен белодробен карцином (NSCLC), получена от метастаза в лимфен възел на възрастен мъж с белодробен карцином. Заедно с клетките H292, H1299 се използва широко като модел на NSCLC в изследванията в областта на раковата биология и имуноонкологията. Клетъчната линия проявява епителиоподобна морфология, характеризираща се с адхезивни, сплескани клетки с дебелина по-малко от 5 μm и приблизително време на удвояване от 22–30 часа. Клетките H1299 експресират кератин и виментини, но са отрицателни за неврофиламентен триплет протеин, което отразява фенотип с епителиални и мезенхимни характеристики.

Генетично, клетките H1299 притежават хомозиготна частична делеция в гена TP53, което води до пълна загуба на експресията на протеина p53. Линията се характеризира също така с див тип KRAS статус, което я отличава от други модели на NSCLC, като например клетките A549, които носят ендеогенни KRAS мутации. Поради липсата на функционален p53 сигналинг в комбинация с интактен KRAS, клетките H1299 често се използват за изучаване на биологията на туморните супресори, онкогенните сигнални пътища, апоптозата, метастазите и механизмите на терапевтична резистентност. В сравнение с епителни клетъчни линии на NSCLC, като A549, клетките H1299 проявяват по-мезенхимен фенотип с намалена експресия на епителни маркери, което ги прави особено полезни за изследвания на епително-мезенхимния преход (EMT), инвазия и метастатично развитие.

Съобщава се също, че H1299 клетките синтезират невропептида невромедин В (NMB) в ниски нива, докато не се наблюдава производство на гастрин-освобождаващ пептид (GRP). Тяхната стабилна характеристика на растеж, висока трансфектируемост и добре охарактеризиран молекулярен фон са допринесли за широкото им използване в проучвания, включващи целеви терапии, генетично редактиране, имуномедирана цитотоксичност и надолу по веригата KRAS-асоциирани сигнални пътища. Като при всички модели на туморни клетки, култивирани в дългосрочен план, се препоръчва периодична автентификация и потвърждаване на ключовите молекулярни характеристики, за да се гарантира възпроизводимостта на експериментите.

Organism Човек

Tissue Бял дроб

Disease Карцином

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Характеристики

Age 59 години

Ethnicity Кавказки

Клетки NCI-H1299 | 300485

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation NCI-H1299 (каталожен номер 300485 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS, добавете 2,5 g/L глюкоза и 10 mM HEPES

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCI-H1299 | 300485

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.