

Buňky NCI-H1299 | 300485

Obecné informace

Description

NCI-H1299, známá také jako H1299, je lidská buněčná linie nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC), která byla izolována z metastázy v lymfatické uzlině od dospělého muže s karcinomem plic. Spolu s buňkami H292 se H1299 široce používá jako model NSCLC ve výzkumu biologie rakoviny a imuno-onkologie. Buněčná linie vykazuje epiteliální morfologii charakterizovanou adhezivními, zploštělými buňkami o tloušťce menší než 5 µm a přibližnou dobou zdvojnásobení 22–30 hodin. Buňky H1299 exprimují keratin a vimentin, ale jsou negativní na neurofilamentový tripletový protein, což odráží fenotyp s epiteliálními i mezenchymálními charakteristikami.

Geneticky obsahují buňky H1299 homozygotní částečnou delecí v genu TP53, což vede k úplné ztrátě exprese proteinu p53. Linie se také vyznačuje stavem divokého typu KRAS, což ji odlišuje od jiných modelů NSCLC, jako jsou buňky A549, které nesou endogenní mutace KRAS. Vzhledem k absenci funkční p53 signalizace v kombinaci s intaktním KRAS se buňky H1299 často používají ke studiu biologie tumor supresorů, onkogenních signálních drah, apoptózy, metastázování a mechanismů terapeutické rezistence. Ve srovnání s více epiteliálními buněčnými liniemi NSCLC, jako je A549, vykazují buňky H1299 spíše mezenchymální fenotyp se sníženou expresí epiteliálních markerů, což je činí obzvláště užitečnými pro výzkum epiteliálně-mezenchymální transformace (EMT), invaze a progresu metastáz.

Bylo také popsáno, že buňky H1299 syntetizují neuropeptid neuromedin B (NMB) v nízkých hladinách, zatímco produkce detekovatelného peptidu uvolňujícího gastrin (GRP) u nich chybí. Jejich robustní růstové vlastnosti, vysoká transfekovatelnost a dobře charakterizované molekulární pozadí přispěly k jejich širokému využití ve studiích zahrnujících cílené terapie, editaci genů, imunitně zprostředkovanou cytotoxicitu a navazující signální dráhy asociované s KRAS. Stejně jako u všech modelů nádorových buněk kultivovaných dlouhodobě se doporučuje pravidelné ověřování a potvrzování klíčových molekulárních vlastností, aby byla zajištěna reprodukovatelnost experimentů.

Organism Člověk

Tissue Plíce

Disease Karcinom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Charakteristika

Age 59 let

Ethnicity Kavkazský

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Buňky NCI-H1299 | 300485**Citation** NCI-H1299 (katalogové číslo Cytion 300485)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0060**Biomolekulární data****Zpracování****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium 10% FBS, přidejte 2,5 g/l glukózy a 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky NCI-H1299 | 300485**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCI-H1299 | 300485

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.