

Κύτταρα NCI-H1299 | 300485

Γενικές πληροφορίες

Description

Η NCI-H1299, γνωστή και ως H1299, είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC) που δημιουργήθηκε από μεταστάσεις σε λεμφαδένες ενός ενήλικου άνδρα ασθενούς με καρκίνωμα του πνεύμονα. Μαζί με τα κύτταρα H292, η H1299 χρησιμοποιείται ευρέως ως μοντέλο NSCLC στην έρευνα της βιολογίας του καρκίνου και της ανοσο-ογκολογίας. Η κυτταρική σειρά παρουσιάζει επιθηλιακή μορφολογία που χαρακτηρίζεται από προσκολλημένα, πεπλατυσμένα κύτταρα με πάχος μικρότερο από 5 μm και χρόνο διπλασιασμού περίπου 22–30 ώρες. Τα κύτταρα H1299 εκφράζουν κερατίνη και βιμεντίνη, αλλά είναι αρνητικά για την πρωτεΐνη νευροφιλαμέντου τριπλέτας, αντανακλώντας έναν φαινότυπο με επιθηλιακά και μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά.

Γενετικά, τα κύτταρα H1299 φέρουν μια ομόζυγη μερική διαγραφή στο γονίδιο TP53, με αποτέλεσμα την πλήρη απώλεια της έκφρασης της πρωτεΐνης p53. Η σειρά χαρακτηρίζεται επίσης από κατάσταση KRAS άγριου τύπου, γεγονός που τη διακρίνει από άλλα μοντέλα NSCLC, όπως τα κύτταρα A549, τα οποία φέρουν ενδογενείς μεταλλάξεις KRAS. Λόγω της απουσίας λειτουργικής σηματοδότησης p53 σε συνδυασμό με άθικτο KRAS, τα κύτταρα H1299 χρησιμοποιούνται συχνά για τη μελέτη της βιολογίας των καταστολέων όγκων, των ογκογονικών οδών σηματοδότησης, της απόπτωσης, της μετάστασης και των μηχανισμών θεραπευτικής αντοχής. Σε σύγκριση με πιο επιθηλιακές κυτταρικές σειρές NSCLC, όπως η A549, τα κύτταρα H1299 εμφανίζουν έναν πιο μεσεγχυματικό φαινότυπο με μειωμένη έκφραση επιθηλιακών δεικτών, γεγονός που τα καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμα για έρευνες σχετικά με την επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετάβαση (EMT), την εισβολή και τη μεταστατική εξέλιξη.

Έχει επίσης αναφερθεί ότι τα κύτταρα H1299 συνθέτουν το νευροπεπτίδιο νευρομεδίνη Β (NMB) σε χαμηλά επίπεδα, ενώ δεν παρουσιάζουν ανιχνεύσιμη παραγωγή πεπτιδίου απελευθέρωσης γαστρίνης (GRP). Τα ισχυρά χαρακτηριστικά ανάπτυξής τους, η υψηλή μετασχηματιστικότητα και το καλά χαρακτηρισμένο μοριακό υπόβαθρο έχουν συμβάλει στην ευρεία χρήση τους σε μελέτες που αφορούν στοχευμένες θεραπείες, γονιδιακή επεξεργασία, ανοσοδιαμεσολαβούμενη κυτταροτοξικότητα και κατάντη οδού σηματοδότησης που σχετίζονται με το KRAS. Όπως συμβαίνει με όλα τα μοντέλα καρκινικών κυττάρων μακροχρόνιας καλλιέργειας, συνιστάται η περιοδική πιστοποίηση και επιβεβαίωση των βασικών μοριακών χαρακτηριστικών, προκειμένου να διασφαλιστεί η αναπαραγωγιμότητα των πειραμάτων.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Πνεύμονας

Disease Καρκίνωμα

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Χαρακτηριστικά

Age 59 χρόνια

Ethnicity Καυκάσιος

Κύτταρα NCI-H1299 | 300485

Growth properties	Προσκολλημένο
--------------------------	---------------

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	NCI-H1299 (αριθμός καταλόγου Cytion 300485)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0060
-----------------------------	-----------

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, προσθέστε 2,5 g/L γλυκόζης και 10 mM HEPES
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
---------------------	--

Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
----------------------	----------------------------

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.
----------------------	---

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυσταλλικό αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυσταλλικό με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρυσταλλοποιημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.