

NCI-H1299 rakud | 300485

Üldine teave

Description

NCI-H1299, tuntud ka kui H1299, on inimese mitteväikerakk-kopsuvähi (NSCLC) rakuliin, mis on saadud kopsuvähiga täiskasvanud meespatsiendi lümfisõlme metastaasist. Koos H292 rakkudega kasutatakse H1299 laialdaselt NSCLC mudelina vähibioloogia ja immuunonkoloogia uuringutes. Rakuliinil on epiteelilaadne morfoloogia, mida iseloomustavad adheseeruvad, lamedad rakud, mille paksus on alla 5 µm ja ligikaudne kahekordistumisaeg 22–30 tundi. H1299 rakud ekspresseerivad keratiini ja vimentiini, kuid on negatiivsed neurofilamentide kolmikproteiini suhtes, peegeldades fenotüüpi, millel on nii epiteelilised kui ka mesenküümilised omadused.

Geneetiliselt sisaldavad H1299 rakud homosügootset osalist deleetsiooni TP53 geenis, mille tulemuseks on p53 valguga ekspressiooni täielik kadu. Seda liini iseloomustab ka loodusliku tüübi KRAS-staatuse, mis eristab seda teistest NSCLC-mudelitest, nagu A549-rakud, millel on endogeensed KRAS-mutatsioonid. Funktsionaalse p53-signalisatsiooni puudumise ja terveks jäänud KRAS-i tõttu kasutatakse H1299-rakke sageli kasvajakasvatuste geenide bioloogia, onkogeensete signaaliteede, apoptoosi, metastaaside ja ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks. Võrreldes epiteelilist NSCLC rakuliinidega, nagu A549, näitavad H1299 rakud mesenküümilisemat fenotüüpi vähendatud epiteelmarkerite ekspressiooniga, mis teeb need eriti kasulikuks epiteelilise mesenküümi ülemineku (EMT), invasiivsuse ja metastaatilise progressiooni uurimisel.

On teatatud, et H1299 rakud sünteesivad vähesel määral neuropeptiidi neuromediini B (NMB), samas kui neil puudub tuvastatav gastriini vabastava peptiidi (GRP) tootmine. Nende tugevad kasvukarakteristikud, kõrge transfekteeritavus ja hästi iseloomustatud molekulaarne taust on aidanud kaasa nende laialdasele kasutamisele uuringutes, mis hõlmavad sihtterapiasid, geenide redigeerimist, immuunvahendatud tsütotoksilisust ja KRAS-iga seotud signaaliteede allavoolu. Nagu kõigi pikaajaliselt kultiveeritud kasvajakumudelite puhul, soovitatakse eksperimendi korratavuse tagamiseks perioodiliselt kontrollida ja kinnitada peamisi molekulaarseid omadusi.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Kartsinoom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Omadused

Age 59 aastat

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

NCI-H1299 rakud | 300485

Regulatiivsed andmed

Citation	NCI-H1299 (Cytioni katalooginumber 300485)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga, lisada 2,5 g/l glükoosi ja 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NCI-H1299 rakud | 300485

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCI-H1299 rakud | 300485

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.