

NCI-H1299-solut | 300485

Yleisiä tietoja

Description

NCI-H1299, joka tunnetaan myös nimellä H1299, on ihmisen ei-pienisoluista keuhkosyöpää (NSCLC) edustava solulinja, joka on peräisin keuhkosyöpää sairastaneen aikuisen miespotilaan imusolmukemetastaasista. H292-solujen ohella H1299-solulinjaa käytetään laajalti ei-pienisoluista keuhkosyöpää (NSCLC) edustavana mallina syöpäbiologian ja immuno-onkologian tutkimuksessa. Solulinjalla on epiteelin kaltainen morfologia, jolle on ominaista kiinnittyneet, litistyneet solut, joiden paksuus on alle 5 µm ja joiden kaksinkertaistumisaika on noin 22–30 tuntia. H1299-solut ilmentävät keratiinia ja vimentiniä, mutta ovat negatiivisia neurofilamenttiritriplettiproteiinin suhteen, mikä heijastaa fenotyyppiä, jolla on sekä epiteelisiä että mesenkymaalaisia ominaisuuksia.

Geneettisesti H1299-soluissa on homotsygoottinen osittainen deleetio TP53-geenissä, mikä johtaa p53-proteiinin ilmentymisen täydelliseen menetykseen. Linjaa leimaa myös villityyppinen KRAS-status, mikä erottaa sen muista NSCLC-malleista, kuten A549-soluista, joissa on endogeenisiä KRAS-mutaatioita. Toimivan p53-signaaloinnin puuttumisen ja ehjän KRAS-geenin yhdistelmän ansiosta H1299-soluja käytetään usein tutkimaan tuumorisuppressoriologiaa, onkogeenisiä signaalintireittejä, apoptoosia, etäpesäkkeitä ja terapeuttisen resistenssin mekanismeja. Verrattuna epiteelisempiin NSCLC-solulinjoihin, kuten A549:ään, H1299-solut osoittavat enemmän mesenkymaalaisia piirteitä ja niissä on vähäisempi epiteelimerkkien ilmentyminen, mikä tekee niistä erityisen hyödyllisiä epiteeli-mesenkymaalaisia siirtymiä (EMT), invaasiota ja metastaatista etenemistä koskeissa tutkimuksissa.

H1299-solujen on myös raportoitu syntetisoivan neuropeptidiä neuromediini B:tä (NMB) vähäisissä määrissä, mutta niillä ei ole havaittavaa gastriinivapauttavan peptidin (GRP) tuotantoa. Niiden vahvat kasvun ominaisuudet, korkea transfektoitavuus ja hyvin karakterisoitu molekyyliastausta ovat edistäneet niiden laajaa käyttöä tutkimuksissa, jotka liittyvät kohdennettuihin terapioihin, geenimuokkaukseen, immuunivälitteiseen sytotoksisuuteen ja KRAS:iin liittyviin signaalireitteihin. Kuten kaikkien pitkäaikaisesti viljeltyjen kasvainsolujen mallien kohdalla, suositellaan säännöllistä todentamista ja keskeisten molekyylisten ominaisuuksien vahvistamista kokeiden toistettavuuden varmistamiseksi.

Organism Ihminen

Tissue Keuhkot

Disease Syöpä

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Ominaisuudet

Age 59 vuotta

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Tarttuva

NCI-H1299-solut | 300485

Säätelytiedot

Citation	NCI-H1299 (Cytionin luettelonumero 300485)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:ää, lisätään 2,5 g/l glukoosia ja 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NCI-H1299-solut | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NCI-H1299-solut | 300485

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.