

NCI-H1299 sejtek | 300485

Általános információk

Description

Az NCI-H1299, más néven H1299, egy humán nem-kissejtes tüdőrák (NSCLC) sejtvonal, amelyet egy tüdőrákban szenvedő felnőtt férfi beteg nyirokcsomó-áttétéből állítottak elő. A H292 sejtekkel együtt a H1299-et széles körben használják NSCLC-modellként a rákbiológiai és immuno-onkológiai kutatásokban. A sejtvonal epitheliális jellegű morfológiát mutat, amelyet tapadó, lapított sejtek jellemeznek, amelyek vastagsága kevesebb, mint 5 µm, és a sejtek szaporodási ideje körülbelül 22–30 óra. A H1299 sejtek keratint és vimentint expresszálnak, de negatívak a neurofilament triplet fehérjére, ami egy olyan fenotípust tükröz, amelyben mind epitheliális, mind mesenchimális jellemzők megtalálhatók.

Genetikailag a H1299 sejtek homozigóta részleges deléciót hordoznak a TP53 génben, ami a p53 fehérje expressziójának teljes elvesztését eredményezi. A vonalat a vad típusú KRAS státusz is jellemzi, ami megkülönbözteti más NSCLC modellektől, például az A549 sejtektől, amelyek endogén KRAS mutációkat hordoznak. A funkcionális p53 jelátvitel hiánya és az ép KRAS kombinációja miatt a H1299 sejteket gyakran használják a tumor szuppresszorok biológiájának, az onkogén jelátviteli útvonalaknak, az apoptózisnak, a metasztázisnak és a terápiás rezisztencia mechanizmusainak tanulmányozására. Az olyan inkább epitheliális NSCLC sejtvonalakhoz képest, mint az A549, a H1299 sejtek inkább mezenchimális fenotípust mutatnak, csökkent epitheliális marker expresszióval, ami különösen hasznossá teszi őket az epitheliális-mezenchimális átalakulás (EMT), az invázió és a metasztatikus progresszió vizsgálatához.

A H1299 sejtek alacsony szinten szintetizálják a neuromedin B (NMB) neuropeptidet, miközben nem mutatható ki náluk a gasztrin-fel szabadító peptid (GRP) termelése. Erőteljes növekedési jellemzőik, magas transzfektálhatóságuk és jól jellemzett molekuláris hátterük hozzájárult ahhoz, hogy széles körben használják őket a célzott terápiákkal, génszerkesztéssel, immunmediált citotoxicitással és a KRAS-hoz kapcsolódó jelátviteli útvonalakkal kapcsolatos kutatásokban. Mint minden hosszú távon tenyésztett tumorsejtmodell esetében, a kísérleti reprodukálhatóság biztosítása érdekében ajánlott a kulcsfontosságú molekuláris jellemzők időszakos hitelesítése és megerősítése.

Organism Emberi

Tissue Tüdő

Disease Karcinóma

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Jellemzők

Age 59 év

Ethnicity Kaukázusi

Growth properties Adherent

NCI-H1299 sejtek | 300485

Szabályozási adatok

Citation	NCI-H1299 (Cytion katalógusszám: 300485)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	Egészítsük ki a táptalajt 10% FBS-szel, adjunk hozzá 2,5 g/l glükózt és 10 mM HEPES-t
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadéokban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

NCI-H1299 sejtek | 300485

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCI-H1299 sejtek | 300485

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.