Product sheet

NCI-H1299 ląstelės | 300485

Bendra informacija

Description	NCI-H1299, taip pat žinoma kaip H1299, yra žmogaus nedidelio ląstelių plaučių vėžio (NSCLC) ląstelių linija, išskirta iš limfmazgio metastazės, paimtos iš suaugusio vyro, sergančio plaučių karcinoma. Kartu su H292 ląstelėmis, H1299 plačiai naudojama kaip NSCLC modelis vėžio biologijos ir imunoonkologijos tyrimuose. Ląstelių linija pasižymi epitelio tipo morfologija, kuriai būdingos adhezyvios, suplotos ląstelės, kurių storis mažesnis nei 5 µm, o apytikslis dvigubėjimo laikas yra 22–30 valandų. H1299 ląstelės ekspresuoja keratiną ir vimentiną, tačiau yra neigiamos neurofilamento tripletinio baltymo atžvilgiu, atspindėdamos fenotipą, turintį tiek epitelio, tiek mezenchiminio audinio savybių. Genetiškai H1299 ląstelės turi homozigotinę dalinę TP53 geno deleciją, dėl kurios visiškai prarandama p53 baltymo ekspresija. Ši linija taip pat pasižymi laukinio tipo KRAS statusu, kuris ją išskiria iš kitų NSCLC modelių, pvz., A549 ląstelių, turinčių endogeninių KRAS mutacijų. Dėl funkcinio p53 signalizavimo nebuvimo kartu su nepažeistu KRAS, H1299 ląstelės dažnai naudojamos naviko slopintojų biologijai, onkogeninių signalizavimo kelių, apoptozei, metastazavimui ir terapinio atsparumo mechanizmams tirti. Palyginti su labiau epitelinėmis NSCLC ląstelių linijomis, pvz., A549, H1299 ląstelės pasižymi labiau mezenchiminiu fenotipu su sumažėjusia epitelinių žymenų ekspresija, todėl jos ypač naudingos tyrimams, susijusiems su epitelio-mezenchiminio perėjimo (EMT), invazijos ir metastazavimo progresija. Taip pat pranešta, kad H1299 ląstelės sintezuoja nedidelį kiekį neuropeptido neuromedino B (NMB), tačiau jose nėra aptinkamo gastrino išskiriančio peptido (GRP) gamybos. Dėl jų tvirtų augimo savybių, didelio transfekcijos pajėgumo ir gerai apibūdinto molekulinio fono jos plačiai naudojamos tyrimuose, susijusiuose su tikslinėmis terapijomis, genų redagavimu, imunine citotoksiškumu ir pasroviui esančiais su KRAS susijusiais signalizacijos keliais. Kaip ir visų ilgalaikių naviko ląstelių kultūrų modelių atveju, siekiant užtikrinti eksperimentų pakartojamumą, rekomenduojama periodiškai atlikti autentiškumo patikrinimą ir patvirtinti pagrindines molekulinės savybes.
Organism	Žmogus
Tissue	Plaučiai
Disease	Karcinoma
Synonyms	H1299, H-1299, NCIH1299

Charakteristikos

Age	59 metai
Ethnicity	Kaukaziečių
Growth properties	Prigludęs

NCI-H1299 ląstelės | 300485

Reguliavimo duomenys

Citation	NCI-H1299 (Cytion katalogo numeris 300485)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, pridėkite 2,5 g/l gliukozės ir 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NCI-H1299 ląstelės | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.