

NCI-H1299 šūnas | 300485

Vispārīga informācija

Description

NCI-H1299, pazīstama arī kā H1299, ir cilvēka nesīkšūnu plaušu vēža (NSCLC) šūnu līnija, kas izveidota no limfmezglu metastāzes, kas iegūta no pieauguša vīrieša pacienta ar plaušu karcinomu. Līdzīgi kā H292 šūnas, H1299 tiek plaši izmantota kā NSCLC modelis vēža bioloģijas un imūnonkoloģijas pētījumos. Šī šūnu līnija izrāda epitēlija tipa morfoloģiju, ko raksturo adhezīvas, saplacinātas šūnas ar biežumu mazāku par 5 μm un aptuvenu dubultošanās laiku 22–30 stundas. H1299 šūnas ekspresē keratīnu un vimentīnu, bet ir negatīvas attiecībā uz neirofilamentu tripletu proteīnu, atspoguļojot fenotipu ar gan epitēlija, gan mezenhīma raksturīgajām pazīmēm.

Ģenētiski H1299 šūnās ir homozigota daļēja delecija TP53 gēnā, kas izraisa pilnīgu p53 proteīna ekspresijas zudumu. Šo līniju raksturo arī savvaļas tipa KRAS statuss, kas to atšķir no citiem NSCLC modeļiem, piemēram, A549 šūnām, kurās ir endogēnas KRAS mutācijas. Funkcionālas p53 signālizācijas trūkuma un neskartā KRAS dēļ H1299 šūnas bieži izmanto, lai pētītu audzēju supresoru bioloģiju, onkogēnos signālceļus, apoptozi, metastāzes un terapeitiskās rezistences mehānismus. Salīdzinot ar vairāk epitelālām NSCLC šūnu līnijām, piemēram, A549, H1299 šūnas izrāda vairāk mezenhīmisku fenotipu ar samazinātu epitelālo marķieru ekspresiju, padarot tās īpaši noderīgas pētījumiem par epitelālo-mezenhīmisko pāreju (EMT), invāziju un metastātisko progresēšanu.

Ir ziņots, ka H1299 šūnas sintēzē nelielu daudzumu neuropeptīda neuromedīna B (NMB), bet tajās nav konstatējama gastrīnu atbrīvojošā peptīda (GRP) ražošana. To spēcīgās augšanas īpašības, augsta transfekcijas spēja un labi raksturotais molekulārais fons ir veicinājis to plašu izmantošanu pētījumos, kas saistīti ar mērķtiecīgām terapijām, gēnu rediģēšanu, imūnsistēmas mediētu citotoksicitāti un KRAS saistītiem signālceļiem. Tāpat kā visiem ilgtermiņā kultivētiem audzēja šūnu modeļiem, eksperimentu reproducējamības nodrošināšanai ieteicams veikt periodisku autentifikāciju un galveno molekulāro īpašību apstiprināšanu.

Organism Cilvēks

Tissue Plaušas

Disease Karcinoma

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Raksturojums

Age 59 gadi

Ethnicity Kaukāzietis

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

NCI-H1299 šūnas | 300485

Citation NCI-H1299 (Cytion kataloga numurs 300485)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildiniet barotni ar 10% FBS, pievienojiet 2,5 g/l glikozes un 10 mM HEPES

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

NCI-H1299 šūnas | 300485

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCI-H1299 šūnas | 300485

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.