Product sheet

Komórki NCI-H1299 | 300485

Informacje ogólne

Description	NCI-H1299, znana również jako H1299, to ludzka linia komórkowa niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC), wyhodowana z przerzutu do węzła chłonnego pochodzącego od dorosłego mężczyzny z rakiem płuca. Podobnie jak komórki H292, linia H1299 jest szeroko stosowana jako model NSCLC w badaniach z zakresu biologii nowotworów i immunoonkologii. Linia komórkowa wykazuje morfologię podobną do nabłonkowej, charakteryzującą się przylegającymi, spłaszczonymi komórkami o grubości mniejszej niż 5 µm i przybliżonym czasie podwojenia wynoszącym 22–30 godzin. Komórki H1299 wykazują ekspresję keratyny i wimentyny, ale są ujemne pod względem białka neurofilamentowego typu triplet, co odzwierciedla fenotyp o cechach zarówno nabłonkowych, jak i mezenchymalnych. Pod względem genetycznym komórki H1299 charakteryzują się homozygotyczną częściową delecją w genie TP53, co skutkuje całkowitą utratą ekspresji białka p53. Linia ta charakteryzuje się również statusem KRAS typu dzikiego, co odróżnia ją od innych modeli NSCLC, takich jak komórki A549, które posiadają endogenne mutacje KRAS. Ze względu na brak funkcjonalnego sygnalizowania p53 w połączeniu z nienaruszonym KRAS, komórki H1299 są często wykorzystywane do badania biologii supresorów nowotworowych, onkogennych szlaków sygnałowych, apoptozy, przerzutów oraz mechanizmów oporności na leczenie. W porównaniu z bardziej nabłonkowymi liniami komórkowymi NSCLC, takimi jak A549, komórki H1299 wykazują bardziej mezenchymalny fenotyp ze zmniejszoną ekspresją markerów nabłonkowych, co czyni je szczególnie przydatnymi do badań nad przejściem nabłonkowo-mezenchymalnym (EMT), inwazją i progresją przerzutową. Doniesiono również, że komórki H1299 syntetyzują neuropeptyd neuromedyna B (NMB) na niskim poziomie, przy braku wykrywalnej produkcji peptydu uwalniającego gastrynę (GRP). Ich solidne cechy wzrostu, wysoka transfekowalność oraz dobrze scharakteryzowane tło molekularne przyczyniły się do ich szerokiego zastosowania w badaniach dotyczących terapii celowanych, edycji genów, cytotoksyczności o podłożu immunologicznym oraz dalszych szlaków sygnałowych związanych z KRAS. Podobnie jak w przypadku wszystkich modeli komórek nowotworowych hodowanych długoterminowo, zaleca się okresową autentyfikację i potwierdzanie kluczowych cech molekularnych w celu zapewnienia powtarzalności eksperymentów.
Organism	Człowiek
Tissue	Płuco
Disease	Rak
Synonyms	H1299, H-1299, NCIH1299

Charakterystyka

Age	59 lat
Ethnicity	Kaukaski
Growth properties	Adherent

Product sheet

Komórki NCI-H1299 | 300485

Dane regulacyjne

Citation	NCI-H1299 (numer katalogowy Cytion 300485)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% FBS, dodać 2,5 g/l glukozy i 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki NCI-H1299 | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.