

Bunky NCI-H1299 | 300485**Všeobecné informácie****Description**

NCI-H1299, známa aj ako H1299, je ľudská bunková línia nemalobunkového karcinómu pľúc (NSCLC), ktorá bola izolovaná z metastázy v lymfatických uzlinách dospelého mužského pacienta s karcinómom pľúc. Spolu s bunkami H292 sa H1299 široko využíva ako model NSCLC vo výskume biológie rakoviny a imuno-onkológie. Bunková línia vykazuje epiteliálnu morfológiu charakterizovanú adhezívnymi, sploštenými bunkami s hrúbkou menšou ako 5 µm a približným zdvojnásobením za 22–30 hodín. Bunky H1299 exprimujú keratín a vimentín, ale sú negatívne na neurofilamentový tripletový proteín, čo odzrkadľuje fenotyp s epiteliálnymi aj mezenchýmovými charakteristikami.

Z genetického hľadiska bunky H1299 obsahujú homozygotnú čiastočnú deléciu v géne TP53, čo má za následok úplnú stratu expície proteínu p53. Táto línia sa vyznačuje aj divokým typom KRAS, čím sa odlišuje od iných modelov NSCLC, ako sú bunky A549, ktoré nesú endogénne mutácie KRAS. Vzhľadom na absenciu funkčnej p53 signalizácie v kombinácii s intaktným KRAS sa bunky H1299 často používajú na štúdium biológie tumorových supresorov, onkogénnych signálnych dráh, apoptózy, metastázovania a mechanizmov terapeutickú rezistencie. V porovnaní s viac epiteliálnymi bunkovými líniami NSCLC, ako sú A549, bunky H1299 vykazujú viac mezenchýmový fenotyp so zníženou expresiou epiteliálnych markerov, čo ich robí obzvlášť užitočnými pre výskum epiteliálno-mezenchýmovej transformácie (EMT), invázie a metastatického progresu.

Bolo tiež zaznamenané, že bunky H1299 syntetizujú neuropeptid neuromedín B (NMB) v nízkych hladinách, pričom nemajú zistiteľnú produkciu peptidu uvoľňujúceho gastrín (GRP). Ich robustné rastové charakteristiky, vysoká transfekovateľnosť a dobre charakterizované molekulárne pozadie prispeli k ich širokému využitiu v štúdiách zahŕňajúcich ciele terapiu, úpravu génov, imunitne sprostredkovanú cytotoxicitu a nadväzujúce signálne dráhy asociované s KRAS. Rovnako ako pri všetkých modeloch nádorových buniek kultivovaných dlhodobo, odporúča sa pravidelné overovanie a potvrdzovanie kľúčových molekulárnych vlastností, aby sa zabezpečila reprodukovateľnosť experimentov.

Organism Ľudské**Tissue** Pľúca**Disease** Karcinóm**Synonyms** H1299, H-1299, NCIH1299**Charakteristika****Age** 59 rokov**Ethnicity** Kaukazský**Growth properties** Adherent

Bunky NCI-H1299 | 300485**Regulačné údaje**

Citation	NCI-H1299 (katalógové číslo Cytion 300485)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Biomolekulárne údaje**Spracovanie**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS, pridajte 2,5 g/l glukózy a 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky NCI-H1299 | 300485**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCI-H1299 | 300485

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.