

Celice NCI-H1299 | 300485

Splošne informacije

Description

NCI-H1299, znana tudi kot H1299, je celična linija človeškega nedrobnoceličnega pljučnega raka (NSCLC), vzpostavljena iz metastaze v limfnih vozlih, pridobljene pri odraslem moškem bolniku s pljučnim karcinomom. Skupaj s celicami H292 se H1299 pogosto uporablja kot model NSCLC v raziskavah na področju rakave biologije in imunoonkologije. Celična linija kaže epitelijsko podobno morfologijo, za katero so značilne adhezivne, sploščene celice z debelino manj kot 5 µm in približnim časom podvojitve 22–30 ur. Celice H1299 izražajo keratin in vimentin, vendar so negativne za nevofilamentni tripletni protein, kar odraža fenotip z epitelijskimi in mezenhimalnimi značilnostmi.

Gensko imajo celice H1299 homozigotno delno delecijo v genu TP53, kar povzroča popolno izgubo izražanja proteina p53. Linija se odlikuje tudi po statusu divjega tipa KRAS, kar jo loči od drugih modelov NSCLC, kot so celice A549, ki nosijo endogene mutacije KRAS. Zaradi odsotnosti funkcionalnega signaliziranja p53 v kombinaciji z nepoškodovanim KRAS se celice H1299 pogosto uporabljajo za preučevanje biologije tumorjev, onkogenih signalnih poti, apoptoze, metastaz in mehanizmov terapevtske odpornosti. V primerjavi z bolj epitelijskimi linijami celic NSCLC, kot so A549, celice H1299 kažejo bolj mezenhimalni fenotip z zmanjšano ekspresijo epitelijskih markerjev, kar jih naredi posebej uporabne za raziskave prehoda iz epitelijskega v mezenhimalni tip (EMT), invazije in metastaziranja.

Poročalo se je tudi, da celice H1299 v majhnih količinah sintetizirajo neuropeptid neuromedin B (NMB), medtem ko ne proizvajajo zaznavnega peptida, ki sprošča gastrin (GRP). Njihove močne rastne lastnosti, visoka transfekcijska sposobnost in dobro opredeljeno molekularno ozadje so prispevali k njihovi široki uporabi v študijah, ki vključujejo ciljno usmerjene terapije, urejanje genov, imunsko posredovano citotoksičnost in navzdolne signalne poti, povezane s KRAS. Kot pri vseh modelih tumorskih celic, gojenih dolgoročno, se priporoča redno preverjanje pristnosti in potrjevanje ključnih molekularnih značilnosti, da se zagotovi ponovljivost poskusov.

Organism Človek

Tissue Pljuča

Disease Karcinom

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Značilnosti

Age 59 let

Ethnicity Kavkaški

Growth properties Pripadajoče

Celice NCI-H1299 | 300485**Regulativni podatki**

Citation	NCI-H1299 (katalogska številka Cytion 300485)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Biomolekularni podatki**Ravnanje s spletno stranjo**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišču dodajte 10 % FBS, 2,5 g/l glukoze in 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice NCI-H1299 | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NCI-H1299 | 300485

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.