

Клітини NCI-H1299 | 300485

Загальна інформація

Description

NCI-H1299, також відома як H1299, — це клітинна лінія недрібноклітинного раку легенів (НДКРЛ) людини, отримана з метастазу в лімфатичному вузлі у дорослого пацієнта чоловічої статі з карциномою легенів. Разом із клітинами H292 лінія H1299 широко використовується як модель НДКРЛ у дослідженнях з біології раку та імуноонкології. Клітинна лінія має епітеліоподібну морфологію, що характеризується адгезивними, сплюсненими клітинами товщиною менше 5 мкм і приблизним часом подвоєння 22–30 годин. Клітини H1299 експресують кератин і віментин, але є негативними щодо триплетного білка нейрофіламенту, що відображає фенотип з епітеліальними та мезенхімальними характеристиками.

Генетично клітини H1299 мають гомозиготну часткову делецію в гені TP53, що призводить до повної втрати експресії білка p53. Ця лінія також характеризується диким типом KRAS, що відрізняє її від інших моделей НДРЛ, таких як клітини A549, які несуть ендogenous мутації KRAS. Завдяки відсутності функціонального сигнального шляху p53 у поєднанні з інтактним KRAS клітини H1299 часто використовують для вивчення біології супресорів пухлин, онкогенних сигнальних шляхів, апоптозу, метастазування та механізмів резистентності до терапії. У порівнянні з більш епітеліальними клітинними лініями НДРЛ, такими як A549, клітини H1299 демонструють більш мезенхімальний фенотип зі зниженою експресією епітеліальних маркерів, що робить їх особливо корисними для досліджень епітеліально-мезенхімального переходу (EMT), інвазії та прогресування метастазування.

Також повідомлялося, що клітини H1299 синтезують нейропептид нейромедин В (NMB) у невеликих кількостях, тоді як вироблення пептиду, що вивільняє гастрин (GRP), не виявляється. Їхні стійкі характеристики росту, висока трансфектованість та добре охарактеризований молекулярний фон сприяли їх широкому використанню в дослідженнях, що стосуються цільових терапій, редагування генів, імуноопосередкованої цитотоксичності та низових сигнальних шляхів, пов'язаних із KRAS. Як і для всіх моделей пухлинних клітин, що культивуються протягом тривалого часу, рекомендується періодична аутентифікація та підтвердження ключових молекулярних характеристик для забезпечення відтворюваності експериментів.

Organism Людина

Tissue Легені

Disease Карцинома

Synonyms H1299, H-1299, NCIH1299

Характеристики

Age 59 років

Ethnicity Кавказець

Growth properties Адепт

Клітини NCI-H1299 | 300485

Нормативні дані

Citation	NCI-H1299 (номер за каталогом Cytion 300485)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0060

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO ₃ (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Поповніть середовище 10% FBS, додайте 2,5 г/л глюкози та 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NCI-H1299 | 300485

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.