NCI-H1299

300485

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

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 biezumu 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 TP53 gēna delecija, kas izraisa p53 proteīna ekspresijas pilnīgu 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 metastāžu progresēšanu.
Ir ziņots, ka H1299 šūnas arī sintēzē nelielu daudzumu neiropeptīda neuromedīna B (NMB), bet tajās nav konstatējama gastrīnu atbrīvojošā peptīda (GRP) ražošana. To spēcīgās augšanas īpašības, augstā 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.

Audums	Plaušas
Slimība	Karcinoma

Sinonīmi

- H1299
- H-1299
- NCIH1299

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
Bioloģiskās drošības līmenis	1

IDENTIFIKATORI

Atsauce

NCI-H1299 (Cytion kataloga numurs 300485)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_0060

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

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

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

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

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

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.

Šķidruma atjaunošana	2 līdz 3 reizes nedēļā

Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	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.

Uzglabāšanas nosacījumi

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

Piegādes nosacījumi

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

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	59 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes