NCI-H1299

300485

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

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.

Chusteczka	Płuco
Choroba	Rak

Synonimy

- H1299
- H-1299
- NCIH1299

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

IDENTYFIKATORY

Źródło

NCI-H1299 (numer katalogowy Cytion 300485)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_0060

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić pożywkę 10% FBS, dodać 2,5 g/l glukozy i 10 mM HEPES

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

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.

Odnawianie płynów	2 do 3 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

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.

Pożywka do zamrażania	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.

Warunki przechowywania

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.

Warunki wysyłki

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.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	59 lat
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes