

NCI-H1299 šūnas | 300485

Vispārīga informācija

Description

NCI-H1299, pazīstama arī kā H1299, ir šūnu līnija, kas izveidota no 43 gadus veca baltādaina vīrieša, kuram bija karcinoma, plaušu limfmezgla metastāzes. H1299 un H292 ir šūnu līnijas, kas nav mazo šūnu plaušu vēzis (NSCLC).

Attiecībā uz to ģenētisko profilu H1299 šūnām ir homozigotiska daļēja p53 proteīna delecija un tām nav p53 proteīna ekspresijas. Lai gan KRAS mutācijas bieži sastopamas dažādos vēža veidos, tostarp NSCLC, H1299 ekspresē KRAS WT. A549 ir vēl viena NSCLC šūnu līnija, kas homozigotiski ekspresē endogēno KRAS G12S.

Izpratne par KRAS bioloģiju un tās pakārtotajiem signalizācijas ceļiem ir ļoti svarīga, lai izstrādātu efektīvu vēža terapiju. Tāpēc šo epitēlijveidīgo šūnu līniju parasti izmanto vēža un imūnonkoloģijas pētījumos.

H1299 šūnu morfoloģijai raksturīgas salīpušas saplacinātas šūnas, kuru biezums ir mazāks par 5 mikroniem. H1299 šūnu aptuvenais dubultošanās laiks ir 22-30 stundas. H1299 šūnas ekspresē keratīnu un vimentīnu, bet ir negatīvas attiecībā uz neirofilamentu tripleta proteīnu.

Ir arī ziņots, ka tās spēj sintezēt peptīdu neiromedīnu B (NMB) 0,1 pmol/mg olbaltumvielu, bet ne gastrīnu atbrīvojošu peptīdu (GRP). Salīdzinājumā ar A549 šūnām, kurām ir vairāk epitēlija pazīmju, H1299 šūnām ir vairāk mezenhimālo pazīmju un mazāk efektīva epitēlija marķieru ekspresija.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Karcinoma

Synonyms

H1299, H-1299, NCIH1299

Raksturojums

Age

59 gadi

Ethnicity

Kaukāzietis

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

NCI-H1299 (Cytion kataloga numurs 300485)

Biosafety level

1

NCI-H1299 šūnas | 300485

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0060

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildiniet barotni ar 10% FBS, pievienojiet 2,5 g/l glikozes un 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem 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 pārklājat 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.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** 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.

NCI-H1299 šūnas | 300485

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

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.

NCI-H1299 šūnas | 300485

Shipping Conditions

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.

Storage Conditions

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

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.