# Sel NCI-H1299-RFP

300272

Sel RFP NCI-H1299, yang dimodifikasi untuk menyertakan reporter dalam gen DAPK1, tidak hanya berguna untuk mempelajari aktivasi gen tertentu, tetapi juga memberikan pemahaman yang lebih luas tentang bagaimana sel bereaksi terhadap obat epigenetik secara global. Dengan menggunakan teknik yang disebut Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), para peneliti dapat merinci perubahan di mana transkripsi dimulai di seluruh genom sebagai respons terhadap pengobatan dengan DNMTi (DAC), HDACi (SAHA atau SB939), atau kombinasinya. Metode ini mengungkapkan tidak hanya reaktivasi gen DAPK1 yang diharapkan tetapi juga munculnya situs awal transkripsi baru, yang disebut TSSs non-anotasi yang diinduksi pengobatan (TINATs), terutama di bawah perawatan obat. Situs awal baru ini biasanya terletak di daerah genom yang biasanya tidak menghasilkan protein dan mengarah pada pembuatan molekul RNA baru yang berpotensi mengkode protein.
Analisis lebih lanjut menunjukkan bahwa molekul RNA baru ini kadang-kadang dapat bergabung dengan yang sudah ada untuk membentuk apa yang dikenal sebagai transkrip fusi TINAT-exon. Tergantung pada bagaimana transkrip ini disambung, transkrip ini dapat diterjemahkan menjadi protein baru yang tidak lazim. Proses ini telah dikonfirmasi melalui teknik laboratorium yang menunjukkan bahwa transkrip ini memang dapat menghasilkan bentuk protein baru. Protein-protein ini mungkin berinteraksi secara tidak normal di dalam sel atau dikenali sebagai benda asing oleh sistem kekebalan tubuh, sehingga berpotensi menawarkan target baru untuk terapi kanker.
Aktivasi TINAT ini melibatkan perubahan rumit dalam metilasi DNA dan modifikasi histon, yang menggambarkan interaksi yang kompleks antara faktor-faktor epigenetik ini dalam pengobatan. Secara khusus, penggunaan gabungan DAC dan SB939 menunjukkan efek yang lebih besar, meningkatkan ekspresi transkrip baru ini lebih banyak daripada ketika salah satu obat digunakan sendiri. Memahami interaksi ini dan hasilnya membantu memperjelas bagaimana terapi epigenetik mengubah perilaku sel dan membuka kemungkinan untuk pengobatan kanker baru yang memanfaatkan perubahan molekuler yang kompleks ini.

## INFORMASI UMUM

### Deskripsi

Sel RFP NCI-H1299, yang dimodifikasi untuk menyertakan reporter dalam gen DAPK1, tidak hanya berguna untuk mempelajari aktivasi gen tertentu, tetapi juga memberikan pemahaman yang lebih luas tentang bagaimana sel bereaksi terhadap obat epigenetik secara global. Dengan menggunakan teknik yang disebut Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), para peneliti dapat merinci perubahan di mana transkripsi dimulai di seluruh genom sebagai respons terhadap pengobatan dengan DNMTi (DAC), HDACi (SAHA atau SB939), atau kombinasinya. Metode ini mengungkapkan tidak hanya reaktivasi gen DAPK1 yang diharapkan tetapi juga munculnya situs awal transkripsi baru, yang disebut TSSs non-anotasi yang diinduksi pengobatan (TINATs), terutama di bawah perawatan obat. Situs awal baru ini biasanya terletak di daerah genom yang biasanya tidak menghasilkan protein dan mengarah pada pembuatan molekul RNA baru yang berpotensi mengkode protein.
Analisis lebih lanjut menunjukkan bahwa molekul RNA baru ini kadang-kadang dapat bergabung dengan yang sudah ada untuk membentuk apa yang dikenal sebagai transkrip fusi TINAT-exon. Tergantung pada bagaimana transkrip ini disambung, transkrip ini dapat diterjemahkan menjadi protein baru yang tidak lazim. Proses ini telah dikonfirmasi melalui teknik laboratorium yang menunjukkan bahwa transkrip ini memang dapat menghasilkan bentuk protein baru. Protein-protein ini mungkin berinteraksi secara tidak normal di dalam sel atau dikenali sebagai benda asing oleh sistem kekebalan tubuh, sehingga berpotensi menawarkan target baru untuk terapi kanker.
Aktivasi TINAT ini melibatkan perubahan rumit dalam metilasi DNA dan modifikasi histon, yang menggambarkan interaksi yang kompleks antara faktor-faktor epigenetik ini dalam pengobatan. Secara khusus, penggunaan gabungan DAC dan SB939 menunjukkan efek yang lebih besar, meningkatkan ekspresi transkrip baru ini lebih banyak daripada ketika salah satu obat digunakan sendiri. Memahami interaksi ini dan hasilnya membantu memperjelas bagaimana terapi epigenetik mengubah perilaku sel dan membuka kemungkinan untuk pengobatan kanker baru yang memanfaatkan perubahan molekuler yang kompleks ini.

| | |
|---|---|
| **Tisu** | Paru-paru |
| **Penyakit** | Karsinoma sel besar |
| **Lokasi metastasis** | Lokasi tumor primer (paru-paru) |

### Aplikasi

Penelitian terapi epigenetik; reaktivasi gen DAPK1; studi respons terhadap obat DNMTi dan HDACi; TSS yang tidak terannotasi akibat pengobatan (TINAT); transkriptomik CAGE; analisis transkrip fusi; produksi protein atipikal dari promotor tersembunyi; penyaringan kombinasi obat epigenetik

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

## KLASIFIKASI

| | |
|---|---|
| **Organisme** | Manusia |
| **Sifat-sifat pertumbuhan** | Pengikut |
| **Status GMO** | GMO-S1 |

**Rincian status GMO**

GMO-S1: This NCI-H1299 derivative (DKFZ #P-1045) contains a stably silenced EGFP reporter in the DAPK1 locus enabling epigenetic reactivation readout. G418-resistance cassette present. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

| | |
|---|---|
| **Tingkat keamanan hayati** | 1 |

## KARAKTERISTIK

| | |
|---|---|
| **Morfologi** | Seperti epitel |
| **Jenis sel** | Sel epitel |
| **Waktu penggandaan** | sekitar 24 hingga 36 jam |

## PENGIDENTIFIKASI

**Referensi**

NCI-H1299-EGFP, dengan resistensi G418 dan reporter yang dinonaktifkan (DKFZ # P-1045) (nomor katalog Cytion 300272)

| | |
|---|---|
| **Nomor Identifikasi Pajak NCBI** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_XB25 |

## PENANGANAN DAN BUDIDAYA

**Media kultur**

RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Nomor artikel Cytion 820700a)

| | |
|---|---|
| **Suasana inkubasi** | 37°C, 5%CO2, atmosfer yang dilembabkan. |

**Suplemen**

Tambahkan media dengan 10% FBS

| | |
|---|---|
| **Reagen disosiasi** | Accutase |

**Perbanyakan sel**

Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

| | |
|---|---|
| **Rasio pemisahan** | 1 sampai 5 |
| **Kepadatan penanaman** | 1 hingga 3 × $10^4$ sel/$cm^2$ |
| **Pergantian cairan** | 2 hingga 3 kali per minggu |

**Pencairan dan pembiakan**

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.

## PENGENDALIAN MUTU DAN KRIOPRESERVASI

**Kemandulan**

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.
Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

| | |
|---|---|
| **Media pembekuan** | Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi. |

**Kondisi penyimpanan**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

**Ketentuan pengiriman**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

## HUKUM DAN KESELAMATAN

**Tindakan pencegahan keselamatan**

Ketika berencana menyimpan kriovial dalam nitrogen cair untuk pencairan di masa mendatang, Anda wajib mematuhi langkah-langkah keamanan yang ketat. Sarung tangan dan pakaian pelindung yang tepat sangat penting, dan penggunaan masker wajah atau kacamata pengaman diperlukan selama pemindahan sampel beku ke atau dari tangki nitrogen cair. Hal ini untuk mengurangi risiko cedera akibat potensi ledakan cryovial pada saat pemindahan, yang dapat mengakibatkan proyeksi fragmen tajam.

**Garansi**

Di Cytion, kami mendukung kualitas dan kelangsungan hidup produk kami.
Kami menjamin bahwa sel kami akan dapat bertahan hidup pada awal kultur selama 60 hari setelah pengiriman dari fasilitas kami.
Kami menjamin bahwa semua bahan sesuai dengan spesifikasi yang dijelaskan dalam Sertifikat Analisis dan / atau Lembar Produk
Untuk detail lengkap, silakan merujuk ke <a href=""/Siapa-kami-Garansi/Garansi/"" hreflang=""x-default"">Pernyataan Jaminan kami

| | |
|---|---|
| **Berlaku ketentuan perjanjian pihak ketiga** | Yes |

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