Tế bào NCI-H1299-RFP

300272

Các tế bào NCI-H1299 RFP, được biến đổi để bao gồm một gen báo cáo trong gen DAPK1, không chỉ hữu ích cho việc nghiên cứu sự kích hoạt cụ thể của gen mà còn cung cấp cái nhìn tổng quan về cách các tế bào phản ứng với các thuốc điều chỉnh biểu sinh trên toàn bộ hệ thống. Bằng cách sử dụng kỹ thuật phân tích biểu hiện gen bằng Cap (CAGE), các nhà nghiên cứu đã có thể chi tiết hóa sự thay đổi vị trí khởi đầu phiên mã trên toàn bộ bộ gen khi tiếp xúc với các thuốc ức chế methyltransferase DNA (DNMTi) như DAC, ức chế histone deacetylase (HDACi) như SAHA hoặc SB939, hoặc kết hợp của chúng. Phương pháp này không chỉ cho thấy sự tái hoạt hóa dự kiến của gen DAPK1 mà còn sự xuất hiện của các vị trí bắt đầu phiên mã mới, được gọi là TINAT (Treatment-Induced Non-Annotated TSS), đặc biệt dưới tác động của thuốc. Các vị trí bắt đầu mới này thường nằm trong các vùng của bộ gen không thường sản xuất protein và dẫn đến việc tạo ra các phân tử RNA mới có thể mã hóa cho protein.
Phân tích sâu hơn cho thấy các phân tử RNA mới này đôi khi có thể hợp nhất với các phân tử hiện có để tạo thành các bản sao TINAT-exon fusion. Tùy thuộc vào cách các bản sao này được cắt ghép, chúng có thể dịch mã thành các protein mới, bất thường. Quá trình này đã được xác nhận thông qua các kỹ thuật phòng thí nghiệm cho thấy các bản sao này thực sự có thể dẫn đến việc sản xuất các dạng protein mới. Các protein này có thể tương tác bất thường trong tế bào hoặc bị hệ miễn dịch nhận diện là ngoại lai, tiềm ẩn các mục tiêu mới cho điều trị ung thư.
Việc kích hoạt các TINAT này liên quan đến những thay đổi phức tạp trong cả methyl hóa DNA và sửa đổi histone, minh họa sự tương tác phức tạp giữa các yếu tố biểu sinh này dưới tác động của thuốc. Đặc biệt, việc sử dụng kết hợp DAC và SB939 cho hiệu quả cao hơn, tăng cường biểu hiện của các bản sao mới này hơn so với khi sử dụng riêng lẻ từng loại thuốc. Hiểu rõ các tương tác này và kết quả của chúng giúp làm sáng tỏ cách các liệu pháp biểu sinh thay đổi hành vi của tế bào và mở ra khả năng cho các phương pháp điều trị ung thư mới tận dụng những thay đổi phân tử phức tạp này.

GENERAL INFORMATION

Description

Các tế bào NCI-H1299 RFP, được biến đổi để bao gồm một gen báo cáo trong gen DAPK1, không chỉ hữu ích cho việc nghiên cứu sự kích hoạt cụ thể của gen mà còn cung cấp cái nhìn tổng quan về cách các tế bào phản ứng với các thuốc điều chỉnh biểu sinh trên toàn bộ hệ thống. Bằng cách sử dụng kỹ thuật phân tích biểu hiện gen bằng Cap (CAGE), các nhà nghiên cứu đã có thể chi tiết hóa sự thay đổi vị trí khởi đầu phiên mã trên toàn bộ bộ gen khi tiếp xúc với các thuốc ức chế methyltransferase DNA (DNMTi) như DAC, ức chế histone deacetylase (HDACi) như SAHA hoặc SB939, hoặc kết hợp của chúng. Phương pháp này không chỉ cho thấy sự tái hoạt hóa dự kiến của gen DAPK1 mà còn sự xuất hiện của các vị trí bắt đầu phiên mã mới, được gọi là TINAT (Treatment-Induced Non-Annotated TSS), đặc biệt dưới tác động của thuốc. Các vị trí bắt đầu mới này thường nằm trong các vùng của bộ gen không thường sản xuất protein và dẫn đến việc tạo ra các phân tử RNA mới có thể mã hóa cho protein.
Phân tích sâu hơn cho thấy các phân tử RNA mới này đôi khi có thể hợp nhất với các phân tử hiện có để tạo thành các bản sao TINAT-exon fusion. Tùy thuộc vào cách các bản sao này được cắt ghép, chúng có thể dịch mã thành các protein mới, bất thường. Quá trình này đã được xác nhận thông qua các kỹ thuật phòng thí nghiệm cho thấy các bản sao này thực sự có thể dẫn đến việc sản xuất các dạng protein mới. Các protein này có thể tương tác bất thường trong tế bào hoặc bị hệ miễn dịch nhận diện là ngoại lai, tiềm ẩn các mục tiêu mới cho điều trị ung thư.
Việc kích hoạt các TINAT này liên quan đến những thay đổi phức tạp trong cả methyl hóa DNA và sửa đổi histone, minh họa sự tương tác phức tạp giữa các yếu tố biểu sinh này dưới tác động của thuốc. Đặc biệt, việc sử dụng kết hợp DAC và SB939 cho hiệu quả cao hơn, tăng cường biểu hiện của các bản sao mới này hơn so với khi sử dụng riêng lẻ từng loại thuốc. Hiểu rõ các tương tác này và kết quả của chúng giúp làm sáng tỏ cách các liệu pháp biểu sinh thay đổi hành vi của tế bào và mở ra khả năng cho các phương pháp điều trị ung thư mới tận dụng những thay đổi phân tử phức tạp này.

Tissue	Phổi
Disease	Ung thư biểu mô tế bào lớn
Metastatic site	Vị trí khối u nguyên phát (phổi)

Applications

Nghiên cứu liệu pháp biểu sinh; Kích hoạt lại gen DAPK1; Nghiên cứu phản ứng với các loại thuốc ức chế DNMT (DNMTi) và ức chế HDAC (HDACi); Các điểm khởi đầu phiên mã chưa được chú thích do điều trị gây ra (TINATs); Phân tích biểu hiện gen bằng phương pháp CAGE; Phân tích bản sao phiên mã hợp nhất; Sản sinh protein bất thường từ các trình tự khởi động ẩn; Sàng lọc kết hợp thuốc biểu sinh

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

CLASSIFICATION

Organism	Human
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Tương tự biểu mô
Cell type	Tế bào biểu mô
Doubling time	khoảng 24 đến 36 giờ

IDENTIFIERS

Citation

NCI-H1299-EGFP, có khả năng kháng G418 và gen báo cáo bị ức chế (DKFZ # P-1045) (Mã sản phẩm Cytion 300272)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

Supplements

Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Split ratio	1 đến 5
Seeding density	1 đến 3 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần

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

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.
Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Storage conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Shipping conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Third-party agreements apply	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