NCI-H1299-RFP □胞

300272

□过改造的NCI-H1299 RFP细胞含有DAPK1基因的报告基因，它不仅有助于研究特定基因的激活，还能更广泛地了解细胞对表观遗传药物的整体反应。通过使用一种名为基因表达上限分析（CAGE）的技术，研究人员能够详细了解基因组中转录起始位置在 DNMTi（DAC）、HDACi（SAHA或SB939）或它们的组合治疗后的变化。这种方法不仅揭示了 DAPK1 基因预期的重新激活，而且还发现了新的转录起始位点，即治疗诱导的非注释 TSS（TINAT），尤其是在药物治疗的情况下。这些新的转录起始位点通常位于基因组中通常不产生蛋白质的区域，从而产生了可能编码蛋白质的新 RNA 分子。

进一步分析表明，这些新的 RNA 分子有时会与现有的 RNA 分子合并，形成所谓的 TINAT 外显子融合转录本。根据这些转录本的拼接方式，它们可以转化为新的非典型蛋白质。这一过程已通过实验室技术得到证实，证明这些转录本确实可以产生新的蛋白质形式。这些蛋白质可能会在细胞内发生异常相互作用，或被免疫系统识别为异物，从而有可能成为癌症治疗的新靶点。

这些 TINATs 的激活涉及 DNA 甲基化和组蛋白修饰的复杂变化，说明在药物治疗过程中这些表观遗传因素之间存在复杂的相互作用。特别是，联合使用 DAC 和 SB939 会产生更大的效果，比单独使用其中一种药物更能促进这些新转录本的表达。了解这些相互作用及其结果有助于阐明表观遗传疗法是如何改变细胞行为的，并为利用这些复杂的分子变化进行新的癌症治疗提供了可能性。

GENERAL INFORMATION

Description

□过改造的NCI-H1299 RFP细胞含有DAPK1基因的报告基因，它不仅有助于研究特定基因的激活，还能更广泛地了解细胞对表观遗传药物的整体反应。通过使用一种名为基因表达上限分析（CAGE）的技术，研究人员能够详细了解基因组中转录起始位置在 DNMTi（DAC）、HDACi（SAHA或SB939）或它们的组合治疗后的变化。这种方法不仅揭示了 DAPK1 基因预期的重新激活，而且还发现了新的转录起始位点，即治疗诱导的非注释 TSS（TINAT），尤其是在药物治疗的情况下。这些新的转录起始位点通常位于基因组中通常不产生蛋白质的区域，从而产生了可能编码蛋白质的新 RNA 分子。

进一步分析表明，这些新的 RNA 分子有时会与现有的 RNA 分子合并，形成所谓的 TINAT 外显子融合转录本。根据这些转录本的拼接方式，它们可以转化为新的非典型蛋白质。这一过程已通过实验室技术得到证实，证明这些转录本确实可以产生新的蛋白质形式。这些蛋白质可能会在细胞内发生异常相互作用，或被免疫系统识别为异物，从而有可能成为癌症治疗的新靶点。

这些 TINATs 的激活涉及 DNA 甲基化和组蛋白修饰的复杂变化，说明在药物治疗过程中这些表观遗传因素之间存在复杂的相互作用。特别是，联合使用 DAC 和 SB939 会产生更大的效果，比单独使用其中一种药物更能促进这些新转录本的表达。了解这些相互作用及其结果有助于阐明表观遗传疗法是如何改变细胞行为的，并为利用这些复杂的分子变化进行新的癌症治疗提供了可能性。

Tissue	肺部
Disease	大细胞癌
Metastatic site	原发肿瘤部位（肺）

Applications

表观遗传疗法研究；DAPK1基因重新激活；DNMTi和HDACi药物反应研究；治疗诱导的非注释转录起始位点（ TINATs）；CAGE转录组学；融合转录本分析；来自隐性启动子的非典型蛋白质合成；表观遗传药物联合用药筛选

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	上皮样

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

Cell type	□□□□
Doubling time	□24□36□□

IDENTIFIERS

Citation

NCI-H1299-EGFP□□□G418□□□□□□□□□□□DKFZ # P-1045□□Cytion□□ 300272□

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640□w□2.0 mM □□□□□□□w□2.0 g/L NaHCO3□Cytion □□□□ 820700a□□

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO2, □□□□□

Supplements

□□□□□□□ 10% FBS

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□ PBS □□□T25 □□□ 3-5 □□ PBS□T75 □□□ 5-10 □□□□□□ Accutase □□□□□□□T25 □□□ 1-2 □□□T75 □□□ 2.5 □□□□□□□□□□□□ 8-10 □□□□□□□□□□□□□ 10 □□□□□□□□□□□□□□□□□□□ 300xg □□ 3 □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□ □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□

Split ratio	1 □ 5
Seeding density	1 □ 3 × 10^4 □□□/cm^2
Fluid renewal	□□ 2 □ 3 □

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

□□□□ PCR □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□
□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□

Freeze medium	□□□□□□□□□□□□□□□ FBS□+10% DMSO □ CM-1□Cytion □□□□□□ 800100□□□□□□□□□ □□□□□□□□□□□□□□□□□CM-1□Cytion □□□□□□ 800100□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□ □□□□□□□□□□□□□□□□□□

Storage conditions

如需长期保存，可将样品瓶放入气相液氮中，温度约为 -150 至 -196 ℃。在-80 °C下保存只能作为转入液氮前的短暂过渡。

Shipping conditions

冷冻保存的细胞系用干冰装运，并用□过验证的隔热包装和足够的制冷剂在整个运输过程中保持约 -78 °C 的温度。收到货后，应立即检查容器，并立即将小瓶转移到适当的储藏室。

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

计划将低温样品储存在液氮中以便将来解冻时，必须遵守严格的安全措施。在将冷冻样本移入或移出液氮罐时，必须穿戴适当的防护手套和防护服，并使用面罩或安全护目镜。这样做是为了降低在移出时因冷冻样品爆炸而造成伤害的风险，因为爆炸可能导致锋利的碎片飞溅。

Warranty

在Cytion，我们保证产品的质量和活力。
我们保证，从我们的工厂发货后 60 天内，我们的细胞在开始培养时都是存活的。
我们保证所有材料均符合分析证书和/或产品说明书中描述的规格。
有关详细信息，请参阅我们的 <a href="" /Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">保修声明。

Third-party agreements apply	Yes