NCI-H1299-RFP □胞

300272

□過基因改造、在 DAPK1 基因中嵌入報告基因的 NCI-H1299 RFP 細胞，不僅有助於研究特定基因的活化機制，更能讓我們更全面地了解細胞如何整體性地對表觀遺傳藥物作出反應。 透過一種稱為「基因表達帽分析」（CAGE）的技術，研究人員得以詳細闡明，當細胞接受 DNMTi（DAC）、HDACi（SAHA 或 SB939）或其組合治療時，全基因組範圍內轉錄起始位點的變化。 此方法不僅揭示了預期中的 DAPK1 基因重新活化，更發現了新的轉錄起始位點——稱為「治療誘導的非註釋轉錄起始位點」（TINATs）——尤其在藥物治療下更為顯著。 這些新的起始位點通常位於基因組中通常不產生蛋白質的區域，並會產生可能編碼蛋白質的新 RNA 分子。

進一步分析顯示，這些新的 RNA 分子有時會與現有的 RNA 分子融合，形成所謂的 TINAT-外顯子融合轉錄本。 根據這些轉錄本的剪接方式不同，它們可能轉譯成新型的非典型蛋白質。此過程已透過實驗室技術獲得證實，證明這些轉錄本確實能導致新型蛋白質形式的產生。這些蛋白質可能在細胞內產生異常相互作用，或被免疫系統識別為外來物質，從而為癌症治療提供潛在的新靶點。

這些 TINAT 的活化涉及 DNA 甲基化與組蛋白修飾的複雜變化，顯示出在藥物治療下，這些表觀遺傳因子之間存在著複雜的相互作用。 特別是，DAC 與 SB939 的聯合使用顯示出更顯著的效果，其提升這些新型轉錄本的表現程度，遠高於單獨使用任一藥物時。理解這些相互作用及其結果，有助於釐清表觀遺傳療法如何改變細胞行為，並為利用這些複雜分子變化開發新的癌症治療方法開闢了可能性。

GENERAL INFORMATION

Description

□過基因改造、在 DAPK1 基因中嵌入報告基因的 NCI-H1299 RFP 細胞，不僅有助於研究特定基因的活化機制，更能讓我們更全面地了解細胞如何整體性地對表觀遺傳藥物作出反應。 透過一種稱為「基因表達帽分析」（CAGE）的技術，研究人員得以詳細闡明，當細胞接受 DNMTi（DAC）、HDACi（SAHA 或 SB939）或其組合治療時，全基因組範圍內轉錄起始位點的變化。 此方法不僅揭示了預期中的 DAPK1 基因重新活化，更發現了新的轉錄起始位點——稱為「治療誘導的非註釋轉錄起始位點」（TINATs）——尤其在藥物治療下更為顯著。 這些新的起始位點通常位於基因組中通常不產生蛋白質的區域，並會產生可能編碼蛋白質的新 RNA 分子。

進一步分析顯示，這些新的 RNA 分子有時會與現有的 RNA 分子融合，形成所謂的 TINAT-外顯子融合轉錄本。 根據這些轉錄本的剪接方式不同，它們可能轉譯成新型的非典型蛋白質。此過程已透過實驗室技術獲得證實，證明這些轉錄本確實能導致新型蛋白質形式的產生。這些蛋白質可能在細胞內產生異常相互作用，或被免疫系統識別為外來物質，從而為癌症治療提供潛在的新靶點。

這些 TINAT 的活化涉及 DNA 甲基化與組蛋白修飾的複雜變化，顯示出在藥物治療下，這些表觀遺傳因子之間存在著複雜的相互作用。 特別是，DAC 與 SB939 的聯合使用顯示出更顯著的效果，其提升這些新型轉錄本的表現程度，遠高於單獨使用任一藥物時。理解這些相互作用及其結果，有助於釐清表觀遺傳療法如何改變細胞行為，並為利用這些複雜分子變化開發新的癌症治療方法開闢了可能性。

Tissue	肺
Disease	大細胞癌
Metastatic site	原發性腫瘤部位（肺）

Applications

表觀遺傳療法研究；DAPK1 基因重新活化；DNMTi 與 HDACi 藥物反應研究；治療誘導的非註釋轉錄起始位點（TINATs）；CAGE 轉錄組學；融合轉錄本分析；來自隱性啟動子的非典型蛋白質合成；表觀遺傳藥物聯合用藥篩選

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	上皮樣

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	上皮細胞
Doubling time	約 24 至 36 小時

IDENTIFIERS

Citation

NCI-H1299-EGFP，具 G418 抗性及沉默的報告基因（DKFZ # P-1045）（Cytion 型號 300272）

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640，含 2.0 mM 穩定谷氨醯胺，含 2.0 g/L $NaHCO_3$（Cytion 產品編號 820700a）

Incubation atmosphere	37°C，5% CO_2，加濕環境。

Supplements

在培養基中加入 10% 的胎牛血清（FBS）

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

從貼壁細胞中移除舊培養基，並用不含鈣和鎂的 PBS洗滌細胞。T25培養瓶使用3-5毫升PBS，T75培養瓶則使用5-10毫升。接著，用 Accutase 完全覆蓋細胞，T25 培養瓶使用 1–2 毫升，T75 培養瓶則使用 2.5 毫升。將細胞於室溫下孵育 8–10 分鐘，使其脫附。孵育後，將細胞與 10 毫升培養基輕柔混合以使其重新懸浮，然後以 300xg 離心 3 分鐘。棄去上清液，將細胞重新懸浮於新鮮培養基中，並轉移至已預先加入新鮮培養基的新培養瓶中。

Split ratio	1 至 5
Seeding density	1 至 3 × 10^4 個細胞/cm^2
Fluid renewal	每週 2 至 3 次

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

透過基於 PCR 的檢測及基於發光原理的支原體檢測方法，排除支原體污染的可能性。
為確保無細菌、真菌或酵母菌污染，每日均會對細胞培養物進行目視檢查。

Freeze medium	作為冷凍保存培養基，我們使用完全生長培養基（含 FBS）+ 10% DMSO 以確保解凍後的存活率，或使用 CM-1（Cytion 型號 800100），該培養基含有□優化的滲透保護劑和代謝穩定劑，可提升細胞恢復率並減輕冷凍誘導的壓力。

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

Storage conditions

若需長期保存，請將試管置於溫度約為 −150 至 −196 °C 的氣相液氮中。僅在轉移至液氮之前，可將試管暫時存放於 −80 °C 環境中，作為短期過渡步驟。

Shipping conditions

冷凍保存的細胞系會以乾冰冷藏，並裝於 □驗證的隔熱包裝中，包裝內含有足夠的冷媒，以確保在運輸過程中溫度維持在約 −78 °C。收到貨物後，請立即檢查容器，並盡快將試管轉移至適當的儲存場所。

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

若計劃將低溫試管存放在液態氮中以供日後解凍，必須嚴格遵守相關安全措施。 必須穿戴適當的防護手套和防護服，且在將冷凍樣本移入或移出液氮罐時，必須佩戴口罩或安全護目鏡。此舉旨在降低因取出時冷凍試管可能發生爆炸而導致受傷的風險，此類爆炸可能造成尖銳碎片飛濺。

Warranty

在 Cytion，我們對產品的品質與存活率提供保障。
我們保證，自本公司設施出貨後
60 天內，我們的細胞在培養開始時仍具存活能力。
我們保證所有材料均符合
分析證明書及／或產品說明書中所載的規格。
詳情請參閱我們的
《保固聲明》。

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