

NCI-H1299-EGFP-Zellen | 300272

Allgemeine Informationen

Description

Die GFP-Zellen des NCI-H1299, die so modifiziert wurden, dass sie einen Reporter im DAPK1-Gen enthalten, sind nicht nur für die Untersuchung spezifischer Genaktivierung nützlich, sondern ermöglichen auch ein umfassenderes Verständnis dafür, wie Zellen auf epigenetische Medikamente insgesamt reagieren. Mit Hilfe einer Technik, die als Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) bezeichnet wird, waren die Forscher in der Lage, Veränderungen an den Stellen im Genom aufzuzeigen, an denen die Transkription als Reaktion auf Behandlungen mit DNMTi (DAC), HDACi (SAHA oder SB939) oder deren Kombinationen beginnt. Diese Methode zeigt nicht nur die erwartete Reaktivierung des DAPK1-Gens, sondern auch die Entstehung neuer Transkriptionsstartstellen, so genannter behandlungsinduzierter, nicht annotierter TSSs (TINATs), insbesondere unter der Behandlung mit Medikamenten. Diese neuen Startstellen befinden sich in der Regel in Regionen des Genoms, in denen normalerweise keine Proteine gebildet werden, und führen zur Entstehung neuer RNA-Moleküle, die potenziell für Proteine kodieren könnten.

Weitere Analysen zeigen, dass diese neuen RNA-Moleküle manchmal mit bereits vorhandenen fusionieren können, um so genannte TINAT-Exon-Fusionstranskripte zu bilden. Je nachdem, wie diese Transkripte gespleißt werden, können sie zu neuen, atypischen Proteinen werden. Dieser Prozess wurde durch Labortechniken bestätigt, die zeigen, dass diese Transkripte tatsächlich zur Produktion neuer Proteinformen führen können. Diese Proteine könnten innerhalb der Zelle abnorm interagieren oder vom Immunsystem als fremd erkannt werden, was neue Angriffspunkte für die Krebstherapie bieten könnte.

Die Aktivierung dieser TINATs ist mit komplizierten Veränderungen der DNA-Methylierung und der Histon-Modifikationen verbunden, was eine komplexe Interaktion zwischen diesen epigenetischen Faktoren unter medikamentöser Behandlung verdeutlicht. Insbesondere der kombinierte Einsatz von DAC und SB939 zeigt eine stärkere Wirkung und steigert die Expression dieser neuartigen Transkripte stärker, als wenn eines der beiden Medikamente allein eingesetzt wird. Das Verständnis dieser Wechselwirkungen und ihrer Ergebnisse trägt zur Klärung der Frage bei, wie epigenetische Therapien das Zellverhalten verändern, und eröffnet Möglichkeiten für neue Krebsbehandlungen, die sich diese komplexen molekularen Veränderungen zunutze machen.

Organism Menschen

Tissue Lunge

Disease Großzelliges Karzinom

Merkmale

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Adhärent

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

NCI-H1299-EGFP-Zellen | 300272

Citation NCI-H1299-EGFP (Cytion-Katalognummer 300272)**Biosafety level** 1**Expression / Mutation****Handhabung****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,1 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)**Medium supplements** Supplemente des Mediums mit 10% FBS**Passaging solution** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche**Freeze medium** CM-1 (Cytion Katalognummer 800100)

NCI-H1299-EGFP-Zellen | 300272

Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR profile

Amelogenin: x,y

PEZ6: LCLC-97TM1