

## NCI-H1299-RFP ląstelės | 300272

## Bendra informacija

## Description

NCI-H1299 RFP ląstelės, modifikuotos taip, kad į jas būtų įtrauktas DAPK1 geno reporteris, yra naudingos ne tik tiriant konkretaus geno aktyvumą, bet ir padeda plačiau suprasti, kaip ląstelės reaguoja į epigenetinius vaistus visame pasaulyje. Taikydami metodą, vadinamą genų raiškos analize (Cap Analysis of Gene Expression, CAGE), tyrėjai galėjo išsamiai nustatyti, kur genome prasideda transkripcija, reaguojant į gydymą DNMTi (DAC), HDACi (SAHA arba SB939) ar jų deriniais. Šis metodas atskleidžia ne tik tikėtiną DAPK1 geno reaktyvumą, bet ir naujų transkripcijos pradžių vietų, vadinamų gydymo sukeltomis neanototomis TSS (TINAT), atsiradimą, ypač gydant vaistais. Šios naujos pradžių vietos paprastai yra genomo srityse, kuriuose paprastai nesukuriami baltymai, ir jose susidaro naujos RNR molekulės, galinčios koduoti baltymus.

Tolėsnė analizė rodo, kad šios naujos RNR molekulės kartais gali susijungti su jau egzistuojančiomis molekulėmis ir sudaryti vadinamuosius TINAT ir eksonų sintezės transkriptus. Priklausomai nuo to, kaip šie transkriptai yra sujungiami, jie gali virsti naujais netipiniais baltymais. Šis procesas patvirtintas laboratoriniais metodais, kurie rodo, kad šie transkriptai iš tiesų gali lemti naujų baltymų formų gamybą. Šie baltymai gali neįprastai sąveikauti ląstelėje arba būti imuninės sistemos atpažįstami kaip svetimkūniai, o tai gali būti nauji vėžio gydymo taikiniai.

Šių TINAT aktyvavimas susijęs su sudėtingais DNR metilinimo ir histonų modifikacijų pokyčiais, o tai rodo sudėtingą šių epigenetinių veiksnių sąveiką gydant vaistais. Ypač didelis poveikis pasireiškia kartu naudojant DAC ir SB939, kurie padidina šių naujų transkriptų raišką labiau nei naudojant vieną iš šių vaistų. Šių sąveikų ir jų rezultatų supratimas padeda išsiaiškinti, kaip epigenetiniai gydymo būdai keičia ląstelių elgseną, ir atveria galimybes naujiems vėžio gydymo būdams, kurie panaudoja šiuos sudėtingus molekulinis pokyčius.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Plaučiai

**Disease** Didelių ląstelių karcinoma

## Charakteristikos

**Morphology** | epitelį panašus

**Growth properties** Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** NCI-H1299-EGFP, atsparus G418 ir su nutildytu reporteriniu genu (DKFZ # P-1045) (Cytion katalogo numeris 300272)

**Biosafety level** 1

## NCI-H1299-RFP ląstelės | 300272

NCBI\_TaxID 9606

## Biomolekuliniai duomenys

## Tvarkymas

**Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## NCI-H1299-RFP ląstelės | 300272

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**NCI-H1299-RFP ląstelės | 300272**

**Storage  
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

**Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.