

## NCI-H1299-RFP-celler | 300272

## Generell informasjon

## Description

NCI-H1299 RFP-cellene, som er modifisert til å inkludere en reporter i DAPK1-genet, er ikke bare nyttige for å studere spesifikk genaktivering, men gir også en bredere forståelse av hvordan celler reagerer på epigenetiske legemidler globalt. Ved hjelp av en teknikk som kalles Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), har forskerne kunnet kartlegge endringer i hvor transkripsjonen starter på tvers av genomet som respons på behandling med DNMTi (DAC), HDACi (SAHA eller SB939) eller kombinasjoner av disse. Denne metoden avslører ikke bare den forventede reaktiveringen av DAPK1-genet, men også fremveksten av nye transkripsjonsstartsteder, såkalte behandlingsinduserte ikke-annoterte TSS-er (TINAT-er), spesielt under medikamentell behandling. Disse nye startstedene er vanligvis lokalisert i områder av genomet som vanligvis ikke produserer proteiner, og fører til dannelsen av nye RNA-molekyler som potensielt kan kode for proteiner.

Videre analyser viser at disse nye RNA-molekylene noen ganger kan slå seg sammen med eksisterende RNA-molekyler og danne såkalte TINAT-ekson-fusjonstranskripter. Avhengig av hvordan disse transkripsjonene spleises, kan de oversettes til nye, atypiske proteiner. Denne prosessen har blitt bekreftet gjennom laboratorieteknikker som viser at disse transkripsjonene faktisk kan føre til produksjon av nye proteinformer. Disse proteinene kan interagere unormalt i cellen eller bli gjenkjent som fremmede av immunforsvaret, noe som potensielt kan gi nye mål for kreftbehandling.

Aktiveringen av disse TINAT-ene innebærer kompliserte endringer i både DNA-metylering og histonmodifikasjoner, noe som illustrerer et komplekst samspill mellom disse epigenetiske faktorene under medikamentell behandling. Spesielt viser den kombinerte bruken av DAC og SB939 en større effekt, og øker uttrykket av disse nye transkripsjonene mer enn når et av medikamentene brukes alene. Forståelsen av disse interaksjonene og resultatene av dem bidrar til å klargjøre hvordan epigenetiske terapier endrer cellenes atferd, og åpner for muligheter for nye kreftbehandlinger som utnytter disse komplekse molekylære endringene.

**Organism** Menneskelig

**Tissue** Lunge

**Disease** Storcellet karsinom

## Kjennetegn

**Morphology** Epitel-lignende

**Growth properties** Vedhengende

## Regulatoriske data

**Citation** NCI-H1299-EGFP, med G418-resistens og inaktivert reporter-gen (DKFZ # P-1045) (Cytion-katalognummer 300272)

## NCI-H1299-RFP-celler | 300272

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_xB25**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## NCI-H1299-RFP-celler | 300272

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**NCI-H1299-RFP-celler | 300272**

**Storage  
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**

**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

**STR-profil**

**Amelogenin:** x,y

**PEZ6:** LCLC-97TM1