

## NCI-H1299-RFP Hücreleri | 300272

## Genel bilgi

## Description

DAPK1 geninde bir raportör içerecek şekilde modifiye edilen NCI-H1299 RFP hücreleri, yalnızca belirli gen aktivasyonunu incelemek için yararlı olmakla kalmıyor, aynı zamanda hücrelerin epigenetik ilaçlara küresel olarak nasıl tepki verdiğiine dair daha geniş bir anlayış sağlıyor. Araştırmacılar, Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) adı verilen bir teknik kullanarak, DNMTi (DAC), HDACi (SAHA veya SB939) veya bunların kombinasyonlarıyla yapılan tedavilere yanıt olarak genom boyunca transkripsiyonun başladığı yerlerdeki değişiklikleri detaylandırabilmişlerdir. Bu yöntem, sadece DAPK1 geninin beklenen yeniden aktivasyonunu değil, aynı zamanda özellikle ilaç tedavisi altında, tedaviye bağlı notlandırılmamış TSS'ler (TINAT'lar) olarak adlandırılan yeni transkripsiyon başlangıç bölgelerinin ortaya çıkışını da ortaya koymaktadır. Bu yeni başlangıç bölgeleri tipik olarak genomun genellikle protein üretmeyen bölgelerinde bulunur ve potansiyel olarak proteinleri kodlayabilecek yeni RNA moleküllerinin oluşmasına yol açar.

Daha ileri analizler, bu yeni RNA moleküllerinin bazen mevcut olanlarla birleşerek TINAT-ekson füzyon transkriptleri olarak bilinen transkriptleri oluşturabileceğini göstermektedir. Bu transkriptlerin nasıl eklendiğine bağlı olarak, yeni, atipik proteinlere dönüşebilirler. Bu süreç, bu transkriptlerin gerçekten de yeni protein formlarının üretimine yol açabileceğini gösteren laboratuvar teknikleriyle doğrulanmıştır. Bu proteinler hücre içinde anormal etkileşime girebilir veya bağışıklık sistemi tarafından yabancı olarak tanınabilir ve potansiyel olarak kanser tedavisi için yeni hedefler sunabilir.

Bu TINAT'ların aktivasyonu, hem DNA metilasyonunda hem de histon modifikasyonlarında karmaşık değişiklikler içerir ve ilaç tedavisi altındaki bu epigenetik faktörler arasında karmaşık bir etkileşim olduğunu gösterir. Özellikle, DAC ve SB939'un birlikte kullanımı, bu yeni transkriptlerin ifadesini her iki ilacın da tek başına kullanılmasından daha fazla artırarak daha büyük bir etki göstermektedir. Bu etkileşimleri ve sonuçlarını anlamak, epigenetik tedavilerin hücre davranışını nasıl değiştirdiğini netleştirmeye yardımcı olur ve bu karmaşık moleküler değişikliklerden yararlanan yeni kanser tedavileri için olanaklar sunar.

**Organism** İnsan

**Tissue** Akciğer

**Disease** Büyük hücreli karsinom

## Özellikler

**Morphology** Epitel benzeri

**Growth properties** Yapışık

## Düzenleyici Veriler

**Citation** G418 direnci ve susturulmuş raportör içeren NCI-H1299-EGFP (DKFZ # P-1045) (Cytion katalog numarası 300272)

## NCI-H1299-RFP Hücreleri | 300272

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**Biyomoleküler Veriler****Elleçleme****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspense etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspense edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

## NCI-H1299-RFP Hücreleri | 300272

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

**Flask Coating**

Yok

**Freezing  
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping  
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## NCI-H1299-RFP Hücresi | 300272

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.