**Product sheet**

# Tế bào NCI-H1299-RFP | 300272

## Thông tin chung

| | |
|---|---|
| **Description** | Các tế bào NCI-H1299 RFP, được biến đổi để bao gồm một gen báo cáo trong gen DAPK1, không chỉ hữu ích cho việc nghiên cứu sự kích hoạt cụ thể của gen mà còn cung cấp cái nhìn tổng quan về cách các tế bào phản ứng với các thuốc điều chỉnh biểu sinh trên toàn bộ hệ thống. Bằng cách sử dụng kỹ thuật phân tích biểu hiện gen bằng Cap (CAGE), các nhà nghiên cứu đã có thể chi tiết hóa sự thay đổi vị trí khởi đầu phiên mã trên toàn bộ bộ gen khi tiếp xúc với các thuốc ức chế methyltransferase DNA (DNMTi) như DAC, ức chế histone deacetylase (HDACi) như SAHA hoặc SB939, hoặc kết hợp của chúng. Phương pháp này không chỉ cho thấy sự tái hoạt hóa dự kiến của gen DAPK1 mà còn sự xuất hiện của các vị trí bắt đầu phiên mã mới, được gọi là TINAT (Treatment-Induced Non-Annotated TSS), đặc biệt dưới tác động của thuốc. Các vị trí bắt đầu mới này thường nằm trong các vùng của bộ gen không thường sản xuất protein và dẫn đến việc tạo ra các phân tử RNA mới có thể mã hóa cho protein.<br><br>Phân tích sâu hơn cho thấy các phân tử RNA mới này đôi khi có thể hợp nhất với các phân tử hiện có để tạo thành các bản sao TINAT-exon fusion. Tùy thuộc vào cách các bản sao này được cắt ghép, chúng có thể dịch mã thành các protein mới, bất thường. Quá trình này đã được xác nhận thông qua các kỹ thuật phòng thí nghiệm cho thấy các bản sao này thực sự có thể dẫn đến việc sản xuất các dạng protein mới. Các protein này có thể tương tác bất thường trong tế bào hoặc bị hệ miễn dịch nhận diện là ngoại lai, tiềm ẩn các mục tiêu mới cho điều trị ung thư.<br><br>Việc kích hoạt các TINAT này liên quan đến những thay đổi phức tạp trong cả methyl hóa DNA và sửa đổi histone, minh họa sự tương tác phức tạp giữa các yếu tố biểu sinh này dưới tác động của thuốc. Đặc biệt, việc sử dụng kết hợp DAC và SB939 cho hiệu quả cao hơn, tăng cường biểu hiện của các bản sao mới này hơn so với khi sử dụng riêng lẻ từng loại thuốc. Hiểu rõ các tương tác này và kết quả của chúng giúp làm sáng tỏ cách các liệu pháp biểu sinh thay đổi hành vi của tế bào và mở ra khả năng cho các phương pháp điều trị ung thư mới tận dụng những thay đổi phân tử phức tạp này. |
| **Organism** | Con người |
| **Tissue** | Phổi |
| **Disease** | Ung thư biểu mô tế bào lớn |
| **Metastatic site** | Vị trí khối u nguyên phát (phổi) |
| **Applications** | Nghiên cứu liệu pháp biểu sinh; Kích hoạt lại gen DAPK1; Nghiên cứu phản ứng với các loại thuốc ức chế DNMT (DNMTi) và ức chế HDAC (HDACi); Các điểm khởi đầu phiên mã chưa được chú thích do điều trị gây ra (TINATs); Phân tích biểu hiện gen bằng phương pháp CAGE; Phân tích bản sao phiên mã hợp nhất; Sản sinh protein bất thường từ các trình tự khởi động ẩn; Sàng lọc kết hợp thuốc biểu sinh |

## Đặc điểm

| | |
|---|---|
| **Morphology** | Tương tự biểu mô |
| **Cell type** | Tế bào biểu mô |

# Tế bào NCI-H1299-RFP | 300272

| | |
|---|---|
| **Growth properties** | Người tuân thủ |

## Dữ liệu quy định

| | |
|---|---|
| **Citation** | NCI-H1299-EGFP, có khả năng kháng G418 và gen báo cáo bị ức chế (DKFZ # P-1045) (Mã sản phẩm Cytion 300272) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_XB25 |
| **GMO Status** | GMO-S1: Dòng tế bào dẫn xuất từ NCI-H1299 này (DKFZ #P-1045) chứa gen báo hiệu EGFP bị ức chế ổn định tại vị trí gen DAPK1, cho phép đo lường sự tái hoạt hóa biểu sinh. Có cassette kháng G418. Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác biệt ở các quốc gia khác. |

## Dữ liệu sinh học phân tử

## Xử lý

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a) |
| **Supplements** | Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |
| **Doubling time** | khoảng 24 đến 36 giờ |
| **Subculturing** | Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi. |
| **Split ratio** | 1 đến 5 |

## Tế bào NCI-H1299-RFP | 300272

| | |
|---|---|
| **Seeding density** | 1 đến 3 × $10^4$ tế bào/$cm^2$ |
| **Fluid renewal** | 2 đến 3 lần mỗi tuần |
| **Freeze medium** | Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra. |
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.<br>2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.<br>3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.<br>4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.<br>5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.<br>6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.<br>7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.<br>8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy. |
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5%$_{CO_2}$, môi trường ẩm. |
| **Flask Coating** | Không có |

## Tế bào NCI-H1299-RFP | 300272

| | |
|---|---|
| **Freezing Procedure** | Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ. |
| **Shipping Conditions** | Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ. |
| **Storage Conditions** | Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng. |

## Kiểm soát chất lượng và phân tích phân tử

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.<br><br>Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày. |