Клетки NCI-H1299-RFP

300272

Клетките NCI-H1299 RFP, модифицирани така, че да включват репортер в гена DAPK1, са полезни не само за изучаване на специфичната генна активация, но и за по-широко разбиране на това как клетките реагират на епигенетичните лекарства в световен мащаб. С помощта на техника, наречена Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), изследователите са успели да опишат подробно промените в местата, където започва транскрипцията в генома, в отговор на лечение с DNMTi (DAC), HDACi (SAHA или SB939) или техните комбинации. Този метод разкрива не само очакваното реактивиране на гена DAPK1, но и появата на нови места за начало на транскрипцията, наречени неанотирани TSSs (TINATs), предизвикани от лечението, особено при лечение с лекарства. Тези нови начални места обикновено се намират в области на генома, които обикновено не произвеждат протеини, и водят до създаването на нови РНК молекули, които потенциално биха могли да кодират протеини.
По-нататъшният анализ показва, че тези нови РНК молекули понякога могат да се слеят със съществуващи молекули и да образуват т.нар. транскрипти на сливане на TINAT и екзони. В зависимост от това как тези транскрипти се сплитат, те могат да се превърнат в нови, нетипични протеини. Този процес е потвърден чрез лабораторни техники, които показват, че тези транскрипти наистина могат да доведат до производството на нови протеинови форми. Тези белтъци могат да взаимодействат необичайно в клетката или да бъдат разпознати като чужди от имунната система, като потенциално предлагат нови цели за терапия на рака.
Активирането на тези ТИНАТ включва сложни промени както в метилирането на ДНК, така и в модификациите на хистоните, което илюстрира сложното взаимодействие между тези епигенетични фактори при лечение с лекарства. По-специално, комбинираното използване на DAC и SB939 показва по-голям ефект, като повишава експресията на тези нови транскрипти повече, отколкото когато всяко от лекарствата се използва самостоятелно. Разбирането на тези взаимодействия и техните резултати помага да се изясни как епигенетичните терапии променят поведението на клетките и открива възможности за нови лечения на рака, които използват тези сложни молекулярни промени.

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

Клетките NCI-H1299 RFP, модифицирани така, че да включват репортер в гена DAPK1, са полезни не само за изучаване на специфичната генна активация, но и за по-широко разбиране на това как клетките реагират на епигенетичните лекарства в световен мащаб. С помощта на техника, наречена Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), изследователите са успели да опишат подробно промените в местата, където започва транскрипцията в генома, в отговор на лечение с DNMTi (DAC), HDACi (SAHA или SB939) или техните комбинации. Този метод разкрива не само очакваното реактивиране на гена DAPK1, но и появата на нови места за начало на транскрипцията, наречени неанотирани TSSs (TINATs), предизвикани от лечението, особено при лечение с лекарства. Тези нови начални места обикновено се намират в области на генома, които обикновено не произвеждат протеини, и водят до създаването на нови РНК молекули, които потенциално биха могли да кодират протеини.
По-нататъшният анализ показва, че тези нови РНК молекули понякога могат да се слеят със съществуващи молекули и да образуват т.нар. транскрипти на сливане на TINAT и екзони. В зависимост от това как тези транскрипти се сплитат, те могат да се превърнат в нови, нетипични протеини. Този процес е потвърден чрез лабораторни техники, които показват, че тези транскрипти наистина могат да доведат до производството на нови протеинови форми. Тези белтъци могат да взаимодействат необичайно в клетката или да бъдат разпознати като чужди от имунната система, като потенциално предлагат нови цели за терапия на рака.
Активирането на тези ТИНАТ включва сложни промени както в метилирането на ДНК, така и в модификациите на хистоните, което илюстрира сложното взаимодействие между тези епигенетични фактори при лечение с лекарства. По-специално, комбинираното използване на DAC и SB939 показва по-голям ефект, като повишава експресията на тези нови транскрипти повече, отколкото когато всяко от лекарствата се използва самостоятелно. Разбирането на тези взаимодействия и техните резултати помага да се изясни как епигенетичните терапии променят поведението на клетките и открива възможности за нови лечения на рака, които използват тези сложни молекулярни промени.

Тъкан	Бял дроб
Заболяване	Голямоклетъчен карцином
Място на метастазите	Място на първичния тумор (белодробен)

Приложения

Изследвания в областта на епигенетичната терапия; реактивиране на гена DAPK1; проучвания на реакцията към лекарства от типа DNMTi и HDACi; неаннотирани TSS, индуцирани от лечението (TINAT); транскриптомика чрез CAGE; анализ на фузионни транскрипти; синтез на атипични протеини от криптични промотори; скрининг на епигенетични комбинации от лекарства

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Статус на ГМО	GMO-S1

Подробности относно статуса на ГМО

GMO-S1: This NCI-H1299 derivative (DKFZ #P-1045) contains a stably silenced EGFP reporter in the DAPK1 locus enabling epigenetic reactivation readout. G418-resistance cassette present. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Ниво на биологична безопасност	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфология	Подобни на епител
Тип клетка	Епителни клетки
Време за удвояване	приблизително 24 до 36 часа

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

NCI-H1299-EGFP, с резистентност към G418 и заглушен репортер (DKFZ # P-1045) (каталожен номер на Cytion 300272)

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	CVCL_XB25

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (номер на статията в Cytion 820700a)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO_2, овлажнена атмосфера.

Добавки

Допълнете средата с 10% FBS

Реагент за дисоциация	Accutase

Пресаждане

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Коефициент на разделяне	от 1 до 5
Плътност на засяването	от 1 до 3 × 10^4 клетки/$см^2$
Обновяване на течността	2 до 3 пъти седмично

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Размразяване и култивиране

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Прилагат се споразумения с трети страни	Yes