Buňky NCI-H1299-RFP

300272

Buňky NCI-H1299 RFP, modifikované tak, aby obsahovaly reportér v genu DAPK1, jsou užitečné nejen pro studium aktivace specifických genů, ale také umožňují širší pochopení toho, jak buňky reagují na epigenetické léky globálně. Pomocí techniky zvané Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) byli vědci schopni podrobně popsat změny v místech, kde začíná transkripce napříč genomem v reakci na léčbu DNMTi (DAC), HDACi (SAHA nebo SB939) nebo jejich kombinací. Tato metoda odhaluje nejen očekávanou reaktivaci genu DAPK1, ale také vznik nových míst začátku transkripce, tzv. neanotovaných TSS (TINAT), zejména při léčbě léky. Tato nová startovací místa se obvykle nacházejí v oblastech genomu, kde se obvykle nevytvářejí proteiny, a vedou ke vzniku nových molekul RNA, které by potenciálně mohly kódovat proteiny. Další analýzy ukazují, že tyto nové molekuly RNA se někdy mohou spojit se stávajícími a vytvořit tak tzv. fúzní transkripty TINAT-exonů. V závislosti na tom, jak jsou tyto transkripty spojeny, se mohou proměnit v nové, netypické proteiny. Tento proces byl potvrzen laboratorními technikami, které prokázaly, že tyto transkripty mohou skutečně vést k produkci nových forem bílkovin. Tyto bílkoviny mohou v buňce abnormálně interagovat nebo mohou být imunitním systémem rozpoznány jako cizí, což může nabídnout nové cíle pro léčbu rakoviny. Aktivace těchto TINAT zahrnuje složité změny v metylaci DNA i v modifikacích histonů, což ilustruje komplexní interakci mezi těmito epigenetickými faktory při léčbě léky. Zejména kombinované použití DAC a SB939 vykazuje větší účinek a zvyšuje expresi těchto nových transkriptů více, než když je použito jedno z těchto léčiv samostatně. Pochopení těchto interakcí a jejich výsledků pomáhá objasnit, jak epigenetické terapie mění chování buněk, a otevírá možnosti pro nové způsoby léčby rakoviny, které tyto komplexní molekulární změny využívají.

OBECNÉ INFORMACE

Popis

Buňky NCI-H1299 RFP, modifikované tak, aby obsahovaly reportér v genu DAPK1, jsou užitečné nejen pro studium aktivace specifických genů, ale také umožňují širší pochopení toho, jak buňky reagují na epigenetické léky globálně. Pomocí techniky zvané Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) byli vědci schopni podrobně popsat změny v místech, kde začíná transkripce napříč genomem v reakci na léčbu DNMTi (DAC), HDACi (SAHA nebo SB939) nebo jejich kombinací. Tato metoda odhaluje nejen očekávanou reaktivaci genu DAPK1, ale také vznik nových míst začátku transkripce, tzv. neanotovaných TSS (TINAT), zejména při léčbě léky. Tato nová startovací místa se obvykle nacházejí v oblastech genomu, kde se obvykle nevytvářejí proteiny, a vedou ke vzniku nových molekul RNA, které by potenciálně mohly kódovat proteiny. Další analýzy ukazují, že tyto nové molekuly RNA se někdy mohou spojit se stávajícími a vytvořit tak tzv. fúzní transkripty TINAT-exonů. V závislosti na tom, jak jsou tyto transkripty spojeny, se mohou proměnit v nové, netypické proteiny. Tento proces byl potvrzen laboratorními technikami, které prokázaly, že tyto transkripty mohou skutečně vést k produkci nových forem bílkovin. Tyto bílkoviny mohou v buňce abnormálně interagovat nebo mohou být imunitním systémem rozpoznány jako cizí, což může nabídnout nové cíle pro léčbu rakoviny. Aktivace těchto TINAT zahrnuje složité změny v metylaci DNA i v modifikacích histonů, což ilustruje komplexní interakci mezi těmito epigenetickými faktory při léčbě léky. Zejména kombinované použití DAC a SB939 vykazuje větší účinek a zvyšuje expresi těchto nových transkriptů více, než když je použito jedno z těchto léčiv samostatně. Pochopení těchto interakcí a jejich výsledků pomáhá objasnit, jak epigenetické terapie mění chování buněk, a otevírá možnosti pro nové způsoby léčby rakoviny, které tyto komplexní molekulární změny využívají.

Tkáň	Plíce
Nemoc	Velkobuněčný karcinom
Místo metastázy	Místo primárního nádoru (plíce)

Aplikace

Výzkum epigenetické terapie; reaktivace genu DAPK1; studie reakce na léky typu DNMTi a HDACi; léčbou indukované neanotované startovací body transkripce (TINAT); transkriptomika metodou CAGE; analýza fúzních transkriptů; produkce atypických proteinů z kryptických promotorů; screening kombinací epigenetických léků

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Stav GMO	GMO-S1

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

Podrobnosti o statusu GMO

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.

Úroveň biologické bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKA

Morfologie	Epitelu podobné
Typ buňky	Epitelové buňky
Doba zdvojnásobení	přibližně 24 až 36 hodin

IDENTIFIKÁTORY

Citace

NCI-H1299-EGFP, s rezistencí na G418 a potlačeným reportérem (DKFZ č. P-1045) (katalogové číslo Cytion 300272)

Daňové identifikační číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplňky stravy

Doplňte médium o 10% FBS

Disociační činidlo	Accutase

Subkultivace

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Poměr rozdělení	1 až 5
Hustota výsevu	1 až 3 × 10^4 buněk/cm^2
Obnova tekutin	2 až 3krát týdně

Rozmrazování a kultivace

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Platí smlouvy s třetími stranami	Yes