NCI-H1299-RFP-celler

300272

NCI-H1299 RFP-cellerne, der er modificeret til at indeholde en reporter i DAPK1-genet, er ikke kun nyttige til at studere specifik genaktivering, men giver også en bredere forståelse af, hvordan celler reagerer på epigenetiske lægemidler globalt. Ved at bruge en teknik kaldet Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) har forskerne været i stand til at beskrive ændringer i, hvor transkriptionen starter på tværs af genomet som reaktion på behandlinger med DNMTi (DAC), HDACi (SAHA eller SB939) eller kombinationer af disse. Denne metode afslører ikke kun den forventede reaktivering af DAPK1-genet, men også fremkomsten af nye transkriptionsstartsteder, kaldet behandlingsinducerede ikke-annoterede TSS'er (TINAT'er), især under lægemiddelbehandling. Disse nye startsteder er typisk placeret i områder af genomet, der normalt ikke producerer proteiner, og fører til dannelsen af nye RNA-molekyler, der potentielt kan kode for proteiner. Yderligere analyser viser, at disse nye RNA-molekyler nogle gange kan smelte sammen med eksisterende RNA-molekyler og danne såkaldte TINAT-exon-fusionstranskripter. Afhængigt af, hvordan disse transkripter splejses, kan de oversættes til nye, atypiske proteiner. Denne proces er blevet bekræftet gennem laboratorieteknikker, der viser, at disse transkripter faktisk kan føre til produktion af nye proteinformer. Disse proteiner kan interagere unormalt i cellen eller blive genkendt som fremmede af immunsystemet, hvilket potentielt kan give nye mål for kræftbehandling.

Aktiveringen af disse TINATs involverer indviklede ændringer i både DNA-methylering og histonmodifikationer, hvilket illustrerer et komplekst samspil mellem disse epigenetiske faktorer under lægemiddelbehandling. Især den kombinerede brug af DAC og SB939 viser en større effekt og øger udtrykket af disse nye transkripter mere, end når et af lægemidlerne bruges alene. Forståelsen af disse interaktioner og deres resultater hjælper med at afklare, hvordan epigenetiske terapier ændrer cellernes adfærd, og åbner muligheder for nye kræftbehandlinger, der udnytter disse komplekse molekylære ændringer.

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

NCI-H1299 RFP-cellerne, der er modificeret til at indeholde en reporter i DAPK1-genet, er ikke kun nyttige til at studere specifik genaktivering, men giver også en bredere forståelse af, hvordan celler reagerer på epigenetiske lægemidler globalt. Ved at bruge en teknik kaldet Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) har forskerne været i stand til at beskrive ændringer i, hvor transkriptionen starter på tværs af genomet som reaktion på behandlinger med DNMTi (DAC), HDACi (SAHA eller SB939) eller kombinationer af disse. Denne metode afslører ikke kun den forventede reaktivering af DAPK1-genet, men også fremkomsten af nye transkriptionsstartsteder, kaldet behandlingsinducerede ikke-annoterede TSS'er (TINAT'er), især under lægemiddelbehandling. Disse nye startsteder er typisk placeret i områder af genomet, der normalt ikke producerer proteiner, og fører til dannelsen af nye RNA-molekyler, der potentielt kan kode for proteiner. Yderligere analyser viser, at disse nye RNA-molekyler nogle gange kan smelte sammen med eksisterende RNA-molekyler og danne såkaldte TINAT-exon-fusionstranskripter. Afhængigt af, hvordan disse transkripter splejses, kan de oversættes til nye, atypiske proteiner. Denne proces er blevet bekræftet gennem laboratorieteknikker, der viser, at disse transkripter faktisk kan føre til produktion af nye proteinformer. Disse proteiner kan interagere unormalt i cellen eller blive genkendt som fremmede af immunsystemet, hvilket potentielt kan give nye mål for kræftbehandling.

Aktiveringen af disse TINATs involverer indviklede ændringer i både DNA-methylering og histonmodifikationer, hvilket illustrerer et komplekst samspil mellem disse epigenetiske faktorer under lægemiddelbehandling. Især den kombinerede brug af DAC og SB939 viser en større effekt og øger udtrykket af disse nye transkripter mere, end når et af lægemidlerne bruges alene. Forståelsen af disse interaktioner og deres resultater hjælper med at afklare, hvordan epigenetiske terapier ændrer cellernes adfærd, og åbner muligheder for nye kræftbehandlinger, der udnytter disse komplekse molekylære ændringer.

Væv	Lunge
Sygdom	Storcellet karcinom
Metastasested	Primær tumorlokalisation (lunge)

Anvendelser

Forskning i epigenetisk terapi; reaktivering af DAPK1-genet; undersøgelser af respons på DNMTi- og HDACi-lægemidler; behandlingsinducerede, ikke-annoterede transkriptionsstartsteder (TINAT'er); CAGE-transkriptomik; analyse af fusionstranskripter; atypisk proteinproduktion fra kryptiske promotorer; screening af epigenetiske lægemiddelkombinationer

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

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

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.

Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Epitel-lignende
Celletype	Epitheliale celler
Fordoblingstid	ca. 24 til 36 timer

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

NCI-H1299-EGFP, med G418-resistens og inaktiveret reporter (DKFZ # P-1045) (Cytion-katalognummer 300272)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10% FBS

Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Opdelingsforhold	1 til 5
Såtæthed	1 til 3 × 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	2 til 3 gange om ugen

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytion står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der gælder aftaler med tredjeparter	Yes