Κύτταρα NCI-H1299-RFP

300272

Τα κύτταρα NCI-H1299 RFP, τροποποιημένα ώστε να περιλαμβάνουν έναν αναμεταδότη στο γονίδιο DAPK1, δεν είναι μόνο χρήσιμα για τη μελέτη της ενεργοποίησης συγκεκριμένων γονιδίων, αλλά παρέχουν επίσης μια ευρύτερη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα κύτταρα αντιδρούν στα επιγενετικά φάρμακα σε παγκόσμιο επίπεδο. Χρησιμοποιώντας μια τεχνική που ονομάζεται Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), οι ερευνητές μπόρεσαν να καταγράψουν λεπτομερώς τις αλλαγές στο σημείο όπου ξεκινά η μεταγραφή σε όλο το γονιδίωμα ως απόκριση στις θεραπείες με DNMTi (DAC), HDACi (SAHA ή SB939) ή τους συνδυασμούς τους. Η μέθοδος αυτή αποκαλύπτει όχι μόνο την αναμενόμενη επανενεργοποίηση του γονιδίου DAPK1, αλλά και την εμφάνιση νέων θέσεων έναρξης της μεταγραφής, που ονομάζονται επαγόμενες από τη θεραπεία μη σημειωμένες TSS (TINAT), ιδίως υπό φαρμακευτική αγωγή. Αυτές οι νέες θέσεις έναρξης βρίσκονται συνήθως σε περιοχές του γονιδιώματος που συνήθως δεν παράγουν πρωτεΐνες και οδηγούν στη δημιουργία νέων μορίων RNA που θα μπορούσαν δυνητικά να κωδικοποιήσουν πρωτεΐνες.
Περαιτέρω ανάλυση δείχνει ότι αυτά τα νέα μόρια RNA μπορούν μερικές φορές να συγχωνευθούν με τα υπάρχοντα και να σχηματίσουν τα λεγόμενα μεταγραφήματα σύντηξης TINAT-εξονίων. Ανάλογα με τον τρόπο με τον οποίο αυτά τα μεταγράμματα ενώνονται, μπορούν να μεταφραστούν σε νέες, άτυπες πρωτεΐνες. Η διαδικασία αυτή έχει επιβεβαιωθεί μέσω εργαστηριακών τεχνικών που αποδεικνύουν ότι αυτά τα μεταγράμματα μπορούν πράγματι να οδηγήσουν στην παραγωγή νέων μορφών πρωτεϊνών. Αυτές οι πρωτεΐνες μπορεί να αλληλεπιδρούν ανώμαλα μέσα στο κύτταρο ή να αναγνωρίζονται ως ξένες από το ανοσοποιητικό σύστημα, προσφέροντας ενδεχομένως νέους στόχους για τη θεραπεία του καρκίνου.
Η ενεργοποίηση αυτών των TINATs περιλαμβάνει περίπλοκες αλλαγές τόσο στη μεθυλίωση του DNA όσο και στις τροποποιήσεις των ιστονών, καταδεικνύοντας μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των επιγενετικών παραγόντων υπό φαρμακευτική αγωγή.
Ειδικότερα, η συνδυασμένη χρήση των DAC και SB939 παρουσιάζει μεγαλύτερη επίδραση, ενισχύοντας την έκφραση αυτών των νέων μεταγραφών περισσότερο από ό,τι όταν χρησιμοποιείται μόνο του ένα από τα δύο φάρμακα. Η κατανόηση αυτών των αλληλεπιδράσεων και των αποτελεσμάτων τους συμβάλλει στην αποσαφήνιση του τρόπου με τον οποίο οι επιγενετικές θεραπείες μεταβάλλουν τη συμπεριφορά των κυττάρων και ανοίγει δυνατότητες για νέες θεραπείες του καρκίνου που αξιοποιούν αυτές τις πολύπλοκες μοριακές αλλαγές.

ΓΕΝΙΚΈΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΊΕΣ

Περιγραφή

Τα κύτταρα NCI-H1299 RFP, τροποποιημένα ώστε να περιλαμβάνουν έναν αναμεταδότη στο γονίδιο DAPK1, δεν είναι μόνο χρήσιμα για τη μελέτη της ενεργοποίησης συγκεκριμένων γονιδίων, αλλά παρέχουν επίσης μια ευρύτερη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα κύτταρα αντιδρούν στα επιγενετικά φάρμακα σε παγκόσμιο επίπεδο. Χρησιμοποιώντας μια τεχνική που ονομάζεται Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), οι ερευνητές μπόρεσαν να καταγράψουν λεπτομερώς τις αλλαγές στο σημείο όπου ξεκινά η μεταγραφή σε όλο το γονιδίωμα ως απόκριση στις θεραπείες με DNMTi (DAC), HDACi (SAHA ή SB939) ή τους συνδυασμούς τους. Η μέθοδος αυτή αποκαλύπτει όχι μόνο την αναμενόμενη επανενεργοποίηση του γονιδίου DAPK1, αλλά και την εμφάνιση νέων θέσεων έναρξης της μεταγραφής, που ονομάζονται επαγόμενες από τη θεραπεία μη σημειωμένες TSS (TINAT), ιδίως υπό φαρμακευτική αγωγή. Αυτές οι νέες θέσεις έναρξης βρίσκονται συνήθως σε περιοχές του γονιδιώματος που συνήθως δεν παράγουν πρωτεΐνες και οδηγούν στη δημιουργία νέων μορίων RNA που θα μπορούσαν δυνητικά να κωδικοποιήσουν πρωτεΐνες.
Περαιτέρω ανάλυση δείχνει ότι αυτά τα νέα μόρια RNA μπορούν μερικές φορές να συγχωνευθούν με τα υπάρχοντα και να σχηματίσουν τα λεγόμενα μεταγραφήματα σύντηξης TINAT-εξονίων. Ανάλογα με τον τρόπο με τον οποίο αυτά τα μεταγράμματα ενώνονται, μπορούν να μεταφραστούν σε νέες, άτυπες πρωτεΐνες. Η διαδικασία αυτή έχει επιβεβαιωθεί μέσω εργαστηριακών τεχνικών που αποδεικνύουν ότι αυτά τα μεταγράμματα μπορούν πράγματι να οδηγήσουν στην παραγωγή νέων μορφών πρωτεϊνών. Αυτές οι πρωτεΐνες μπορεί να αλληλεπιδρούν ανώμαλα μέσα στο κύτταρο ή να αναγνωρίζονται ως ξένες από το ανοσοποιητικό σύστημα, προσφέροντας ενδεχομένως νέους στόχους για τη θεραπεία του καρκίνου.
Η ενεργοποίηση αυτών των TINATs περιλαμβάνει περίπλοκες αλλαγές τόσο στη μεθυλίωση του DNA όσο και στις τροποποιήσεις των ιστονών, καταδεικνύοντας μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των επιγενετικών παραγόντων υπό φαρμακευτική αγωγή.
Ειδικότερα, η συνδυασμένη χρήση των DAC και SB939 παρουσιάζει μεγαλύτερη επίδραση, ενισχύοντας την έκφραση αυτών των νέων μεταγραφών περισσότερο από ό,τι όταν χρησιμοποιείται μόνο του ένα από τα δύο φάρμακα. Η κατανόηση αυτών των αλληλεπιδράσεων και των αποτελεσμάτων τους συμβάλλει στην αποσαφήνιση του τρόπου με τον οποίο οι επιγενετικές θεραπείες μεταβάλλουν τη συμπεριφορά των κυττάρων και ανοίγει δυνατότητες για νέες θεραπείες του καρκίνου που αξιοποιούν αυτές τις πολύπλοκες μοριακές αλλαγές.

Ιστός	Πνεύμονας
Ασθένεια	Καρκίνωμα μεγάλων κυττάρων
Θέση μετάστασης	Θέση πρωτογενούς όγκου (πνεύμονας)

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

Εφαρμογές

Έρευνα στην επιγενετική θεραπεία· επανενεργοποίηση του γονιδίου DAPK1· μελέτες ανταπόκρισης σε φάρμακα DNMTi και HDACi· μη καταχωρημένα σημεία έναρξης μεταγραφής (TINAT) που προκαλούνται από τη θεραπεία· μεταγραφωμική ανάλυση CAGE· ανάλυση μεταγραφών σύντηξης· παραγωγή άτυπων πρωτεϊνών από κρυφούς προαγωγείς· διαλογή συνδυασμών επιγενετικών φαρμάκων

ΤΑΞΙΝΌΜΗΣΗ

Οργανισμός	Άνθρωπος
Ιδιότητες ανάπτυξης	Πιστός
Κατάσταση όσον αφορά τους ΓΤΟ	GMO-S1

Λεπτομέρειες σχετικά με την κατάσταση των ΓΤΟ

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.

Επίπεδο βιοασφάλειας	1

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΆ

Μορφολογία	Επιθηλιοειδής
Τύπος κυττάρου	Επιθηλιακά κύτταρα
Χρόνος διπλασιασμού	περίπου 24 έως 36 ώρες

ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΆ

Παραπομπή

NCI-H1299-EGFP, με αντοχή στο G418 και σιωπηρό δείκτη (DKFZ # P-1045) (αριθμός καταλόγου Cytion 300272)

Αριθμός φορολογικού μητρώου NCBI	9606
Κελλοσαύρος	CVCL_XB25

ΧΕΙΡΙΣΜΌΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΈΡΓΕΙΑ

Θρεπτικό μέσο

RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)

Ατμόσφαιρα επώασης	37°C, 5%CO2, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Συμπληρώματα

Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Αντιδραστήριο αποσύνδεσης	Accutase

Αναπαραγωγή σε υποκαλλιέργεια

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Αναλογία διαχωρισμού	1 έως 5
Πυκνότητα σποράς	1 έως 3 × 10^4 κύτταρα/cm^2

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

Ανανέωση υγρών	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Απόψυξη και καλλιέργεια

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.

ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΌΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΚΡΥΟΣΥΝΤΉΡΗΣΗ

Στειρότητα

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.
Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

Μέσο κατάψυξης	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Συνθήκες αποθήκευσης

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Όροι αποστολής

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

ΝΟΜΙΚΆ ΘΈΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΆΛΕΙΑ

Μέτρα ασφαλείας

Όταν σχεδιάζετε να αποθηκεύσετε ένα κρυοφιαλίδιο σε υγρό άζωτο για μελλοντική απόψυξη, είναι υποχρεωτικό να τηρείτε αυστηρά μέτρα ασφαλείας. Τα κατάλληλα προστατευτικά γάντια και ο κατάλληλος προστατευτικός ρουχισμός είναι απαραίτητα, ενώ απαιτείται η χρήση μάσκας προσώπου ή γυαλιών ασφαλείας κατά τη μεταφορά κατεψυγμένων δειγμάτων προς ή από τη δεξαμενή υγρού αζώτου. Αυτό γίνεται για να μετριαστεί ο κίνδυνος τραυματισμού από πιθανές εκρήξεις κρυοσωλήνων κατά την απομάκρυνση, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν στην προβολή αιχμηρών θραυσμάτων.

Εγγύηση

Στην Cytion, υποστηρίζουμε την ποιότητα και τη βιωσιμότητα των προϊόντων μας.
Εγγυόμαστε ότι τα κύτταρά μας θα είναι βιώσιμα κατά την έναρξη της καλλιέργειας για 60 ημέρες μετά την αποστολή από τις εγκαταστάσεις μας.
Διαβεβαιώνουμε ότι όλα τα υλικά συμμορφώνονται με τις προδιαγραφές που περιγράφονται στο Πιστοποιητικό Ανάλυσης ή/και στο Φύλλο Προϊόντος
Για πλήρεις λεπτομέρειες, ανατρέξτε στην <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Δήλωση εγγύησης

Ισχύουν συμφωνίες με τρίτους	Yes