NCI-H1299-RFP rakud

300272

NCI-H1299 RFP rakud, mis on modifitseeritud, et lisada DAPK1 geeni reporter, ei ole kasulikud mitte ainult konkreetse geeni aktiveerimise uurimiseks, vaid annavad ka laiema arusaama sellest, kuidas rakud reageerivad epigeneetilistele ravimitele globaalselt. Kasutades tehnikat nimega Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), on teadlased suutnud üksikasjalikult kirjeldada muutusi selles, kus transkriptsioon algab kogu genoomis vastuseks ravile DNMTi (DAC), HDACi (SAHA või SB939) või nende kombinatsioonidega. See meetod näitab mitte ainult DAPK1 geeni oodatud reaktiveerimist, vaid ka uute transkriptsiooni alguskohtade, nn ravi poolt indutseeritud mitte-annoteeritud TSS-ide (TINAT) tekkimist, eriti ravimiravi korral. Need uued alguskohad asuvad tavaliselt genoomi piirkondades, mis tavaliselt ei tooda valke, ja põhjustavad uute RNA-molekulide tekkimist, mis võivad potentsiaalselt kodeerida valke.
Edasine analüüs näitab, et need uued RNA-molekulid võivad mõnikord ühineda olemasolevate molekulidega, moodustades nn TINAT-eksoonide fusioonitranskripte. Sõltuvalt sellest, kuidas need transkriptid splaissitakse, võivad need tõlkida uuteks ebatüüpilisteks valkudeks. Seda protsessi on kinnitatud laboratoorsete meetoditega, mis näitavad, et need transkriptid võivad tõepoolest viia uute valguvormide tekkimiseni. Need valgud võivad rakus ebatavaliselt suhelda või immuunsüsteem võib neid võõrkehadena ära tunda, mis võib pakkuda uusi sihtmärke vähiravi jaoks.
Nende TINATide aktiveerimine hõlmab keerulisi muutusi nii DNA metüleerimises kui ka histoonide modifikatsioonides, mis näitab nende epigeneetiliste tegurite keerulist koostoimet ravimravi korral. Eriti suur mõju on DAC ja SB939 kombineeritud kasutamisel, mis suurendab nende uudsete transkriptide ekspressiooni rohkem kui kummagi ravimi eraldi kasutamisel. Nende koostoimete ja nende tulemuste mõistmine aitab selgitada, kuidas epigeneetilised ravimeetodid muudavad rakkude käitumist, ning avab võimalusi uute vähiravi meetodite jaoks, mis kasutavad ära neid keerulisi molekulaarseid muutusi.

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

NCI-H1299 RFP rakud, mis on modifitseeritud, et lisada DAPK1 geeni reporter, ei ole kasulikud mitte ainult konkreetse geeni aktiveerimise uurimiseks, vaid annavad ka laiema arusaama sellest, kuidas rakud reageerivad epigeneetilistele ravimitele globaalselt. Kasutades tehnikat nimega Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), on teadlased suutnud üksikasjalikult kirjeldada muutusi selles, kus transkriptsioon algab kogu genoomis vastuseks ravile DNMTi (DAC), HDACi (SAHA või SB939) või nende kombinatsioonidega. See meetod näitab mitte ainult DAPK1 geeni oodatud reaktiveerimist, vaid ka uute transkriptsiooni alguskohtade, nn ravi poolt indutseeritud mitte-annoteeritud TSS-ide (TINAT) tekkimist, eriti ravimiravi korral. Need uued alguskohad asuvad tavaliselt genoomi piirkondades, mis tavaliselt ei tooda valke, ja põhjustavad uute RNA-molekulide tekkimist, mis võivad potentsiaalselt kodeerida valke.
Edasine analüüs näitab, et need uued RNA-molekulid võivad mõnikord ühineda olemasolevate molekulidega, moodustades nn TINAT-eksoonide fusioonitranskripte. Sõltuvalt sellest, kuidas need transkriptid splaissitakse, võivad need tõlkida uuteks ebatüüpilisteks valkudeks. Seda protsessi on kinnitatud laboratoorsete meetoditega, mis näitavad, et need transkriptid võivad tõepoolest viia uute valguvormide tekkimiseni. Need valgud võivad rakus ebatavaliselt suhelda või immuunsüsteem võib neid võõrkehadena ära tunda, mis võib pakkuda uusi sihtmärke vähiravi jaoks.
Nende TINATide aktiveerimine hõlmab keerulisi muutusi nii DNA metüleerimises kui ka histoonide modifikatsioonides, mis näitab nende epigeneetiliste tegurite keerulist koostoimet ravimravi korral. Eriti suur mõju on DAC ja SB939 kombineeritud kasutamisel, mis suurendab nende uudsete transkriptide ekspressiooni rohkem kui kummagi ravimi eraldi kasutamisel. Nende koostoimete ja nende tulemuste mõistmine aitab selgitada, kuidas epigeneetilised ravimeetodid muudavad rakkude käitumist, ning avab võimalusi uute vähiravi meetodite jaoks, mis kasutavad ära neid keerulisi molekulaarseid muutusi.

Kude	Kopsud
Haigus	Suurrakuline kartsinoom
Metastaaside asukoht	Esmane kasvaja asukoht (kops)

Rakendused

Epigeneetilise ravi uurimine; DAPK1-geeni reaktiveerimine; uuringud ravimite DNMTi ja HDACi toime kohta; ravi poolt indutseeritud märkimata transkriptsioonialgatuskohad (TINAT-id); CAGE-transkriptomika; fusioonitranskriptide analüüs; atüüpiliste valkude süntees varjatud promootoritest; epigeneetiliste ravimikombinatsioonide sõelumine

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

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

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.

Bioloogilise ohutuse tase	1

OMADUSED

Morfoloogia	Epiteelilaadsed
Rakutüüp	Epiteelirakud
Kahekordistumisaeg	umbes 24–36 tundi

TUNNUSED

Viide

NCI-H1299-EGFP, G418-resistentsusega ja vaigistatud reportergeeniga (DKFZ nr P-1045) (Cytion kataloginumber 300272)

NCBI maksukood	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Jagamissuhe	1–5
Külvitihedus	1–3 × 10^4 rakku/cm^2
Vedeliku vahetus	2 kuni 3 korda nädalas

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

Sulatamine ja kasvatamine

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.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Kehtivad kolmandate osapooltega sõlmitud lepingud	Yes

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