תאי NCI-H1299-RFP

300272

תאי NCI-H1299 RFP, שעברו שינוי כדי לכלול גן DAPK1, אינם שימושיים רק לחקר הפעלת גנים ספציפיים, אלא גם מספקים הבנה רחבה יותר של האופן שבו תאים מגיבים לתרופות אפיגנטיות באופן כללי. באמצעות טכניקה המכונה Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), הצליחו החוקרים לפרט את השינויים במיקום תחילת השעתוק בגנום בתגובה לטיפולים ב-DNMTi (DAC), HDACi (SAHA או SB939) או שילובים שלהם. שיטה זו חושפת לא רק את ההפעלה הצפויה של הגן DAPK1, המכונים TSSs (TINATs) שאינם מתועדים המושרים על ידי אתרי התחלת שעתוק חדשים, אלא גם את הופעתם של אתרי התחלת שעתוק חדשים בגנום שאינם מייצרים בדרך כלל חלבונים ומובילים ליצירת טיפול, במיוחד תחת טיפול תרופתי. אתרי התחלה חדשים אלה ממוקמים בדרך כלל באזורים בגנום שאינם מייצרים בדרך כלל חלבונים ומובילים ליצירת חדשות שעשויות לקודד חלבונים RNA מולקולות.

חדשות אלה יכולות לעיתים להתמזג עם מולקולות קיימות כדי ליצור מה שמכונה "תמלילי RNA ניתוח נוסף מראה כי מולקולות TINAT-exon fusion". בהתאם לאופן שבו תמלילים אלה מחוברים, הם יכולים להתורגם לחלבונים חדשים ולא טיפוסיים. תהליך זה אושר באמצעות טכניקות מעבדה המדגימות שתמלילים אלה אכן יכולים להוביל לייצור צורות חלבון חדשות. חלבונים אלה עשויים לקיים אינטראקציה חריגה בתוך התא או להיות מזוהים כזרים על ידי מערכת החיסון, ובכך להציע יעדים חדשים לטיפול בסרטן.

והן בשינויים בהיסטונים, מה שממחיש את האינטראקציה המורכבת בין גורמים DNA-כרוכה בשינויים מורכבים הן במתילציה של ה TINATs-הפעלת ה-DAC ו-SB939 אפיגנטיים אלה תחת טיפול תרופתי. בפרט, השימוש המשולב ב מראה השפעה גדולה יותר, ומגביר את הביטוי של תמלילים חדשים אלה יותר מאשר כאשר כל אחת מהתרופות משמשת לבדה. הבנת אינטראקציות אלה ותוצאותיהן מסייעת להבהיר כיצד טיפולים אפיגנטיים משנים את התנהגות התאים ופותחת אפשרויות לטיפולים חדשים בסרטן המנצלים שינויים מולקולריים מורכבים אלה.

GENERAL INFORMATION

Description

תאי NCI-H1299 RFP, שעברו שינוי כדי לכלול גן DAPK1, אינם שימושיים רק לחקר הפעלת גנים ספציפיים, אלא גם מספקים הבנה רחבה יותר של האופן שבו תאים מגיבים לתרופות אפיגנטיות באופן כללי. באמצעות טכניקה המכונה Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), הצליחו החוקרים לפרט את השינויים במיקום תחילת השעתוק בגנום בתגובה לטיפולים ב-DNMTi (DAC), HDACi (SAHA או SB939) או שילובים שלהם. שיטה זו חושפת לא רק את ההפעלה הצפויה של הגן DAPK1, המכונים TSSs (TINATs) שאינם מתועדים המושרים על ידי אתרי התחלת שעתוק חדשים, אלא גם את הופעתם של אתרי התחלת שעתוק חדשים בגנום שאינם מייצרים בדרך כלל חלבונים ומובילים ליצירת טיפול, במיוחד תחת טיפול תרופתי. אתרי התחלה חדשים אלה ממוקמים בדרך כלל באזורים בגנום שאינם מייצרים בדרך כלל חלבונים ומובילים ליצירת חדשות שעשויות לקודד חלבונים RNA מולקולות.

חדשות אלה יכולות לעיתים להתמזג עם מולקולות קיימות כדי ליצור מה שמכונה "תמלילי RNA ניתוח נוסף מראה כי מולקולות TINAT-exon fusion". בהתאם לאופן שבו תמלילים אלה מחוברים, הם יכולים להתורגם לחלבונים חדשים ולא טיפוסיים. תהליך זה אושר באמצעות טכניקות מעבדה המדגימות שתמלילים אלה אכן יכולים להוביל לייצור צורות חלבון חדשות. חלבונים אלה עשויים לקיים אינטראקציה חריגה בתוך התא או להיות מזוהים כזרים על ידי מערכת החיסון, ובכך להציע יעדים חדשים לטיפול בסרטן.

והן בשינויים בהיסטונים, מה שממחיש את האינטראקציה המורכבת בין גורמים DNA-כרוכה בשינויים מורכבים הן במתילציה של ה TINATs-הפעלת ה-DAC ו-SB939 אפיגנטיים אלה תחת טיפול תרופתי. בפרט, השימוש המשולב ב מראה השפעה גדולה יותר, ומגביר את הביטוי של תמלילים חדשים אלה יותר מאשר כאשר כל אחת מהתרופות משמשת לבדה. הבנת אינטראקציות אלה ותוצאותיהן מסייעת להבהיר כיצד טיפולים אפיגנטיים משנים את התנהגות התאים ופותחת אפשרויות לטיפולים חדשים בסרטן המנצלים שינויים מולקולריים מורכבים אלה.

Tissue	ריאה
Disease	קרצינומה של תאים גדולים
Metastatic site	מיקום הגידול הראשוני (ריאה)

Applications

אתרי התחלת שעתוק (TSS) ו-DNMTi ו-HDACi; מחקרים על התגובה לתרופות מסוג DAPK1; מחקר בתחום הטיפול האפיגנטי; הפעלה מחדש של הגן CAGE; טרנסקריפטומיקה בשיטת (TINATs); שאינם מתועדים, הנוצרים כתוצאה מהטיפול ניתוח תמלילים משולבים; ייצור חלבונים לא טיפוסיים ממקדמי שעתוק נסתרים; סינון שילובים של תרופות אפיגנטיות

CLASSIFICATION

Organism	Human
Growth properties	Adherent
GMO status	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

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	דמוי אפיתל
Cell type	תאי אפיתל
Doubling time	כ-24 עד 36 שעות

IDENTIFIERS

Citation

NCI-H1299-EGFP, עם עמידות ל-G418 ודיווח מושתק (DKFZ # P-1045) (מספר קטלוג Cytion 300272)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, w: 2.0 mM גלוטמין יציב, w: 2.0 g/L NaHCO3 (מספר קטלוגי של Cytion 820700a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO2, אווירה לחה.

Supplements

10% הוסף לתווך FBS

Dissociation reagent	אקוטאז

Subculturing

השתמש ב-3-5 מ"ל T25, ללא סידן ומגנזיום. עבור בקבוקי PBS-הסר את המדיום הישן מהתאים הדבוקים ושטוף אותם ב PBS, ועבור בקבוקי T75, השאר את T75. ו-2.5 מ"ל עבור בקבוקי T25 תוך שימוש ב-1-2 מ"ל עבור בקבוקי Accutase-השתמש ב-5-10 מ"ל. לאחר מכן, כסה את התאים לחלוטין ב התאים לדגירה בטמפרטורת החדר למשך 8-10 דקות כדי לנתק אותם. לאחר הדגירה, ערבב בעדינות את התאים עם 10 מ"ל של מדיום כדי להחזיר אותם למשך 3 דקות. השלך את הנוזל העליון, החזר את התאים לתמיסה במדיום טרי והעבר אותם לצלחות חדשות xgלתמיסה, ואז סובב בצנטריפוגה ב-300 שכבר מכילות מדיום טרי.

Split ratio	עד 1 5
Seeding density	עד 3 × 10^4 תאים/סמ"ר 1
Fluid renewal	עד 3 פעמים בשבוע 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

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

ושיטות זיהוי מיקופלסמה מבוססות לומניסצנציה PCR זיהום במיקופלסמה נשלל באמצעות בדיקות מבוססות.
כדי להבטיח שאין זיהום חיידקי, פטרייתי או שמרי, תרבויות התאים עוברות בדיקות ויזואליות יומיות.

Freeze medium	כדי להבטיח 10% DMSO + (FBS כולל) כמדיום לשימור בקירור, אנו משתמשים במדיום גידול מלא הכולל חומרים אוסמו- (Cytion 800100 מספר קטלוגי) CM-1 חיוניות נאותה לאחר ההפשרה, או מגנים ומייצבי מטבוליזם משופרים כדי לשפר את ההתאוששות ולהפחית את הלחץ הנגרם מהקפאה.

Storage conditions

לשימור לטווח ארוך, יש להניח את הבקבוקונים בחנקן נוזלי במצב של אדי בטמפרטורה של כ-150 עד 196 מעלות צלזיוס. אחסון בטמפרטורה של 80 מעלות צלזיוס מקובל רק כצעד ביניים קצר לפני העברה לחנקן נוזלי.

Shipping conditions

במהלך C-שורות תאים שהוקפאו נשלחות בקרח יבש באריזה מאושרת ומבודדת עם כמות מספקת של חומר קירור כדי לשמור על טמפרטורה של כ-78°. ההובלה. עם קבלת המשלוח, יש לבדוק את המכל מיד ולהעביר את הבקבוקונים ללא דיחוי לאחסון מתאים.

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

כאשר מתכננים לאחסן קריוביאל בחנקן נוזלי להפשרה עתידית, חובה להקפיד על אמצעי בטיחות מחמירים. יש להקפיד על שימוש בכפפות ובבגדים מגנים מתאימים, וכן על שימוש במסכת פנים או משקפי מגן בעת העברת דגימות קפואות אל מיכל החנקן הנוזלי או ממנו. זאת כדי להפחית את הסיכון לפציעה כתוצאה מפיצוץ אפשרי של הקריוביאל בעת הוצאתו, העלול לגרום להתזת רסיסים חדים.

Warranty

ב-Cytion, אנו עומדים מאחורי האיכות והכדאיות של המוצרים שלנו.
אנו מבטיחים שתאינו יהיו קיימים בתחילת התרבית למשך
60 יום לאחר המשלוח מהמתקנים שלנו.
אנו מבטיחים שכל החומרים תואמים למפרטים המתוארים
בתעודת הניתוח ו/או בדף המוצר.
לפרטים מלאים, אנא עיינו ב
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">הצהרת האחריות שלנו

Third-party agreements apply	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