NCI-H1299-RFP sejtek

300272

Az NCI-H1299 RFP sejtek, amelyeket úgy módosítottak, hogy a DAPK1 génben egy riportert tartalmazzanak, nem csak a specifikus génaktiváció tanulmányozására alkalmasak, hanem szélesebb körű megértést is nyújtanak arról, hogy a sejtek hogyan reagálnak az epigenetikus gyógyszerekre globálisan. A Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) nevű technika alkalmazásával a kutatók képesek voltak részletesen bemutatni, hogy a DNMTi (DAC), HDACi (SAHA vagy SB939), illetve ezek kombinációjával végzett kezelések hatására a genomban hol kezdődik a transzkripció. Ez a módszer nemcsak a DAPK1 gén várható reaktiválódását tárja fel, hanem új transzkripcióindítási helyek, az úgynevezett kezelés által indukált, nem jegyzett TSS-ek (TINAT) megjelenését is, különösen gyógyszeres kezelés alatt. Ezek az új indítóhelyek jellemzően a genom olyan régióiban találhatók, amelyek általában nem termelnek fehérjéket, és új RNS-molekulák létrejöttéhez vezetnek, amelyek potenciálisan fehérjéket kódolhatnak.
További elemzések azt mutatják, hogy ezek az új RNS-molekulák néha összeolvadhatnak a már meglévőkkel, és úgynevezett TINAT-exon fúziós transzkriptumokat alkotnak. Attól függően, hogy ezek a transzkriptumok hogyan splicereződnek, új, atipikus fehérjékké alakulhatnak. Ezt a folyamatot laboratóriumi technikákkal igazolták, amelyek bizonyítják, hogy ezek az átiratok valóban új fehérjeformák előállításához vezethetnek. Ezek a fehérjék rendellenes kölcsönhatásba léphetnek a sejten belül, vagy az immunrendszer idegen anyagként ismerheti fel őket, ami új célpontokat kínálhat a rákterápia számára.
Ezeknek a TINAT-oknak az aktiválása bonyolult változásokat von maga után mind a DNS-metilációban, mind a hisztonmódosulásokban, ami a gyógyszeres kezelés alatt álló epigenetikai tényezők közötti összetett kölcsönhatást mutatja. Különösen a DAC és az SB939 kombinált alkalmazása mutat nagyobb hatást, jobban fokozva ezen új transzkriptek expresszióját, mint amikor bármelyik gyógyszert önmagában alkalmazzák. Ezeknek a kölcsönhatásoknak és eredményeiknek a megértése segít tisztázni, hogy az epigenetikai terápiák hogyan változtatják meg a sejtek viselkedését, és új lehetőségeket nyit meg olyan új rákkezelések számára, amelyek kihasználják ezeket az összetett molekuláris változásokat.

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

Az NCI-H1299 RFP sejtek, amelyeket úgy módosítottak, hogy a DAPK1 génben egy riportert tartalmazzanak, nem csak a specifikus génaktiváció tanulmányozására alkalmasak, hanem szélesebb körű megértést is nyújtanak arról, hogy a sejtek hogyan reagálnak az epigenetikus gyógyszerekre globálisan. A Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) nevű technika alkalmazásával a kutatók képesek voltak részletesen bemutatni, hogy a DNMTi (DAC), HDACi (SAHA vagy SB939), illetve ezek kombinációjával végzett kezelések hatására a genomban hol kezdődik a transzkripció. Ez a módszer nemcsak a DAPK1 gén várható reaktiválódását tárja fel, hanem új transzkripcióindítási helyek, az úgynevezett kezelés által indukált, nem jegyzett TSS-ek (TINAT) megjelenését is, különösen gyógyszeres kezelés alatt. Ezek az új indítóhelyek jellemzően a genom olyan régióiban találhatók, amelyek általában nem termelnek fehérjéket, és új RNS-molekulák létrejöttéhez vezetnek, amelyek potenciálisan fehérjéket kódolhatnak.
További elemzések azt mutatják, hogy ezek az új RNS-molekulák néha összeolvadhatnak a már meglévőkkel, és úgynevezett TINAT-exon fúziós transzkriptumokat alkotnak. Attól függően, hogy ezek a transzkriptumok hogyan splicereződnek, új, atipikus fehérjékké alakulhatnak. Ezt a folyamatot laboratóriumi technikákkal igazolták, amelyek bizonyítják, hogy ezek az átiratok valóban új fehérjeformák előállításához vezethetnek. Ezek a fehérjék rendellenes kölcsönhatásba léphetnek a sejten belül, vagy az immunrendszer idegen anyagként ismerheti fel őket, ami új célpontokat kínálhat a rákterápia számára.
Ezeknek a TINAT-oknak az aktiválása bonyolult változásokat von maga után mind a DNS-metilációban, mind a hisztonmódosulásokban, ami a gyógyszeres kezelés alatt álló epigenetikai tényezők közötti összetett kölcsönhatást mutatja. Különösen a DAC és az SB939 kombinált alkalmazása mutat nagyobb hatást, jobban fokozva ezen új transzkriptek expresszióját, mint amikor bármelyik gyógyszert önmagában alkalmazzák. Ezeknek a kölcsönhatásoknak és eredményeiknek a megértése segít tisztázni, hogy az epigenetikai terápiák hogyan változtatják meg a sejtek viselkedését, és új lehetőségeket nyit meg olyan új rákkezelések számára, amelyek kihasználják ezeket az összetett molekuláris változásokat.

Szövet	Tüdő
Betegség	Nagysejtes karcinóma
Áttétes hely	Az elsődleges daganat helye (tüdő)

Alkalmazások

Epigenetikai terápiával kapcsolatos kutatások; a DAPK1 gén reaktiválása; a DNMTi- és HDACi-gyógyszerekre adott válasz vizsgálata; kezelés által kiváltott, még nem annotált transzkripciós kezdőpontok (TINAT-ok); CAGE-transzkriptomika; fúziós transzkriptumok elemzése; rejtett promóterekből származó atipikus fehérjetermelés; epigenetikai gyógyszerkombinációk szűrése

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

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
GMO-státusz	GMO-S1

A GMO-státuszra vonatkozó részletek

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.

Biológiai biztonsági szint	1

JELLEMZŐK

Morfológia	Epithelszerű
Sejttípus	Epithel sejtek
Kettőzési idő	kb. 24–36 óra

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

NCI-H1299-EGFP, G418-rezisztens és elnémított riporterrel (DKFZ # P-1045) (Cytion katalógusszám: 300272)

NCBI adóazonosító szám	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

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

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Osztási arány	1–5
Ültetési sűrűség	1–3 × 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2-3 alkalommal

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Harmadik felekkel kötött megállapodások érvényesek	Yes