NCI-H1299-RFP ląstelės

300272

NCI-H1299 RFP ląstelės, modifikuotos taip, kad į jas būtų įtrauktas DAPK1 geno reporteris, yra naudingos ne tik tiriant konkretaus geno aktyvavimą, bet ir padeda plačiau suprasti, kaip ląstelės reaguoja į epigenetinius vaistus visame pasaulyje. Taikydami metodą, vadinamą genų raiškos analize (Cap Analysis of Gene Expression, CAGE), tyrėjai galėjo išsamiai nustatyti, kur genome prasideda transkripcija, reaguojant į gydymą DNMTi (DAC), HDACi (SAHA arba SB939) ar jų deriniais. Šis metodas atskleidžia ne tik tikėtiną DAPK1 geno reaktyvaciją, bet ir naujų transkripcijos pradžios vietų, vadinamų gydymo sukeltomis neanotuotomis TSS (TINAT), atsiradimą, ypač gydant vaistais. Šios naujos pradžios vietos paprastai yra genomo srityse, kuriose paprastai nesukuriami baltymai, ir jose susidaro naujos RNR molekulės, galinčios koduoti baltymus.
Tolesnė analizė rodo, kad šios naujos RNR molekulės kartais gali susijungti su jau egzistuojančiomis molekulėmis ir sudaryti vadinamuosius TINAT ir eksonų sintezės transkriptus. Priklausomai nuo to, kaip šie transkriptai yra sujungiami, jie gali virsti naujais netipiniais baltymais. Šis procesas patvirtintas laboratoriniais metodais, kurie rodo, kad šie transkriptai iš tiesų gali lemti naujų baltymų formų gamybą. Šie baltymai gali neįprastai sąveikauti ląstelėje arba būti imuninės sistemos atpažįstami kaip svetimkūniai, o tai gali būti nauji vėžio gydymo taikiniai.
Šių TINAT aktyvavimas susijęs su sudėtingais DNR metilinimo ir histonų modifikacijų pokyčiais, o tai rodo sudėtingą šių epigenetinių veiksnių sąveiką gydant vaistais. Ypač didelis poveikis pasireiškia kartu naudojant DAC ir SB939, kurie padidina šių naujų transkriptų raišką labiau nei naudojant vieną iš šių vaistų. Šių sąveikų ir jų rezultatų supratimas padeda išsiaiškinti, kaip epigenetiniai gydymo būdai keičia ląstelių elgseną, ir atveria galimybes naujiems vėžio gydymo būdams, kurie panaudoja šiuos sudėtingus molekulinius pokyčius.

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

NCI-H1299 RFP ląstelės, modifikuotos taip, kad į jas būtų įtrauktas DAPK1 geno reporteris, yra naudingos ne tik tiriant konkretaus geno aktyvavimą, bet ir padeda plačiau suprasti, kaip ląstelės reaguoja į epigenetinius vaistus visame pasaulyje. Taikydami metodą, vadinamą genų raiškos analize (Cap Analysis of Gene Expression, CAGE), tyrėjai galėjo išsamiai nustatyti, kur genome prasideda transkripcija, reaguojant į gydymą DNMTi (DAC), HDACi (SAHA arba SB939) ar jų deriniais. Šis metodas atskleidžia ne tik tikėtiną DAPK1 geno reaktyvaciją, bet ir naujų transkripcijos pradžios vietų, vadinamų gydymo sukeltomis neanotuotomis TSS (TINAT), atsiradimą, ypač gydant vaistais. Šios naujos pradžios vietos paprastai yra genomo srityse, kuriose paprastai nesukuriami baltymai, ir jose susidaro naujos RNR molekulės, galinčios koduoti baltymus.
Tolesnė analizė rodo, kad šios naujos RNR molekulės kartais gali susijungti su jau egzistuojančiomis molekulėmis ir sudaryti vadinamuosius TINAT ir eksonų sintezės transkriptus. Priklausomai nuo to, kaip šie transkriptai yra sujungiami, jie gali virsti naujais netipiniais baltymais. Šis procesas patvirtintas laboratoriniais metodais, kurie rodo, kad šie transkriptai iš tiesų gali lemti naujų baltymų formų gamybą. Šie baltymai gali neįprastai sąveikauti ląstelėje arba būti imuninės sistemos atpažįstami kaip svetimkūniai, o tai gali būti nauji vėžio gydymo taikiniai.
Šių TINAT aktyvavimas susijęs su sudėtingais DNR metilinimo ir histonų modifikacijų pokyčiais, o tai rodo sudėtingą šių epigenetinių veiksnių sąveiką gydant vaistais. Ypač didelis poveikis pasireiškia kartu naudojant DAC ir SB939, kurie padidina šių naujų transkriptų raišką labiau nei naudojant vieną iš šių vaistų. Šių sąveikų ir jų rezultatų supratimas padeda išsiaiškinti, kaip epigenetiniai gydymo būdai keičia ląstelių elgseną, ir atveria galimybes naujiems vėžio gydymo būdams, kurie panaudoja šiuos sudėtingus molekulinius pokyčius.

Audinys	Plaučiai
Liga	Didelių ląstelių karcinoma
Metastazių vieta	Pirminio naviko lokalizacija (plaučiai)

Paraiškos

Epigenetinės terapijos tyrimai; DAPK1 geno reaktyvavimas; tyrimai dėl reakcijos į DNMTi ir HDACi vaistus; gydymo sukeltos neanotuotos transkripcijos pradžios vietos (TINAT); CAGE transkriptomika; jungtinių transkriptų analizė; netipinių baltymų sintezė iš paslėptų promotorių; epigenetinių vaistų derinių atranka

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Augimo savybės	Prisijungęs
GMO statusas	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

Išsami informacija apie GMO statusą

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.

Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Į epitelį panašus
Ląstelių tipas	Epitelio ląstelės
Laikas, per kurį skaičius padvigubėja	maždaug nuo 24 iki 36 valandų

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

NCI-H1299-EGFP, atsparus G418 ir su nutildytu reporteriniu genu (DKFZ # P-1045) (Cytion katalogo numeris 300272)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Papildykite terpę 10 % FBS

Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Skaidymo santykis	1–5
Sėjos tankis	nuo 1 iki 3 × 10^4 ląstelių/cm^2
Skysčių atnaujinimas	2-3 kartus per savaitę

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Taikomos susitarimai su trečiosiomis šalimis	Yes