NCI-H1299-RFP šūnas

300272

NCI-H1299 RFP šūnas, kas modificētas, lai iekļautu DAPK1 gēna reportieri, ir ne tikai noderīgas specifisku gēnu aktivizācijas izpētei, bet arī sniedz plašāku izpratni par to, kā šūnas reaģē uz epigenētiskajām zālēm visā pasaulē. Izmantojot metodi, ko dēvē par gēnu ekspresijas analīzes vāciņu (CAGE), pētnieki ir spējuši detalizēti noteikt izmaiņas transkripcijas sākumpunktā visā genomā, reaģējot uz ārstēšanu ar DNMTi (DAC), HDACi (SAHA vai SB939) vai to kombinācijām. Šī metode atklāj ne tikai sagaidāmo DAPK1 gēna reaktivizāciju, bet arī jaunu transkripcijas sākuma vietu rašanos, ko sauc par ārstēšanas izraisītām neanotētām TSS (TINAT), īpaši ārstēšanas ar zālēm laikā. Šīs jaunās sākuma vietas parasti atrodas genoma reģionos, kuros parasti neveidojas olbaltumvielas, un to rezultātā rodas jaunas RNS molekulas, kas potenciāli varētu kodēt olbaltumvielas.
Turpmāka analīze liecina, ka šīs jaunās RNS molekulas dažkārt var saplūst ar esošajām, veidojot tā sauktos TINAT-eksonu saplūšanas transkriptus. Atkarībā no tā, kā šie transkripti tiek sajaukti, tie var pārvērsties jaunos, netipiskos proteīnos. Šis process ir apstiprināts, izmantojot laboratorijas metodes, kas pierāda, ka šie transkripti patiešām var radīt jaunas olbaltumvielu formas. Šīs olbaltumvielas var nenormāli mijiedarboties šūnā vai imūnsistēma tās var atpazīt kā svešas, tādējādi potenciāli piedāvājot jaunus mērķus vēža terapijai.
Šo TINAT aktivizācija ir saistīta ar sarežģītām izmaiņām gan DNS metilēšanā, gan histonu modifikācijās, ilustrējot šo epigenētisko faktoru sarežģīto mijiedarbību zāļu iedarbības laikā. Jo īpaši DAC un SB939 kombinēta lietošana uzrāda lielāku iedarbību, palielinot šo jauno transkriptu ekspresiju vairāk nekā tad, ja lieto kādu no šīm zālēm atsevišķi. Izpratne par šīm mijiedarbībām un to rezultātiem palīdz noskaidrot, kā epigenētiskā terapija maina šūnu uzvedību, un paver iespējas jauniem vēža ārstēšanas veidiem, kas izmanto šīs sarežģītās molekulārās pārmaiņas.

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

NCI-H1299 RFP šūnas, kas modificētas, lai iekļautu DAPK1 gēna reportieri, ir ne tikai noderīgas specifisku gēnu aktivizācijas izpētei, bet arī sniedz plašāku izpratni par to, kā šūnas reaģē uz epigenētiskajām zālēm visā pasaulē. Izmantojot metodi, ko dēvē par gēnu ekspresijas analīzes vāciņu (CAGE), pētnieki ir spējuši detalizēti noteikt izmaiņas transkripcijas sākumpunktā visā genomā, reaģējot uz ārstēšanu ar DNMTi (DAC), HDACi (SAHA vai SB939) vai to kombinācijām. Šī metode atklāj ne tikai sagaidāmo DAPK1 gēna reaktivizāciju, bet arī jaunu transkripcijas sākuma vietu rašanos, ko sauc par ārstēšanas izraisītām neanotētām TSS (TINAT), īpaši ārstēšanas ar zālēm laikā. Šīs jaunās sākuma vietas parasti atrodas genoma reģionos, kuros parasti neveidojas olbaltumvielas, un to rezultātā rodas jaunas RNS molekulas, kas potenciāli varētu kodēt olbaltumvielas.
Turpmāka analīze liecina, ka šīs jaunās RNS molekulas dažkārt var saplūst ar esošajām, veidojot tā sauktos TINAT-eksonu saplūšanas transkriptus. Atkarībā no tā, kā šie transkripti tiek sajaukti, tie var pārvērsties jaunos, netipiskos proteīnos. Šis process ir apstiprināts, izmantojot laboratorijas metodes, kas pierāda, ka šie transkripti patiešām var radīt jaunas olbaltumvielu formas. Šīs olbaltumvielas var nenormāli mijiedarboties šūnā vai imūnsistēma tās var atpazīt kā svešas, tādējādi potenciāli piedāvājot jaunus mērķus vēža terapijai.
Šo TINAT aktivizācija ir saistīta ar sarežģītām izmaiņām gan DNS metilēšanā, gan histonu modifikācijās, ilustrējot šo epigenētisko faktoru sarežģīto mijiedarbību zāļu iedarbības laikā. Jo īpaši DAC un SB939 kombinēta lietošana uzrāda lielāku iedarbību, palielinot šo jauno transkriptu ekspresiju vairāk nekā tad, ja lieto kādu no šīm zālēm atsevišķi. Izpratne par šīm mijiedarbībām un to rezultātiem palīdz noskaidrot, kā epigenētiskā terapija maina šūnu uzvedību, un paver iespējas jauniem vēža ārstēšanas veidiem, kas izmanto šīs sarežģītās molekulārās pārmaiņas.

Audums	Plaušas
Slimība	Lielo šūnu karcinoma
Metastāžu vieta	Primārā audzēja lokalizācija (plaušas)

Pieteikumi

Pētījumi epigenētiskās terapijas jomā; DAPK1 gēna reaktivācija; pētījumi par reakciju uz DNMTi un HDACi zālēm; ārstēšanas rezultātā radušies neannotēti transkripcijas sākumpunkti (TINAT); CAGE transkriptomika; fūzijas transkriptu analīze; atipisku proteīnu sintēze no slēptiem promotoriem; epigenētisko zāļu kombināciju skrīnings

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Augšanas īpašības	Atbalstītājs

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

ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

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.

Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlijveidīgs
Šūnu tips	Epitēlija šūnas
Laiks, kas nepieciešams, lai skaits dubultojās	aptuveni 24 līdz 36 stundas

IDENTIFIKATORI

Atsauce

NCI-H1299-EGFP ar G418 rezistenci un apklusinātu reportergēnu (DKFZ # P-1045) (Cytion kataloga numurs 300272)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Sadalījuma attiecība	no 1 līdz 5
Sēšanas blīvums	1 līdz 3 × 10^4 šūnas/cm^2
Šķidruma atjaunošana	2 līdz 3 reizes nedēļā

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

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Tiek piemēroti līgumi ar trešajām personām	Yes