NCI-H1299-RFP-celler

300272

NCI-H1299 RFP-cellene, som er modifisert til å inkludere en reporter i DAPK1-genet, er ikke bare nyttige for å studere spesifikk genaktivering, men gir også en bredere forståelse av hvordan celler reagerer på epigenetiske legemidler globalt. Ved hjelp av en teknikk som kalles Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), har forskerne kunnet kartlegge endringer i hvor transkripsjonen starter på tvers av genomet som respons på behandling med DNMTi (DAC), HDACi (SAHA eller SB939) eller kombinasjoner av disse. Denne metoden avslører ikke bare den forventede reaktiveringen av DAPK1-genet, men også fremveksten av nye transkripsjonsstartsteder, kalt behandlingsinduserte ikke-annoterte TSS-er (TINAT-er), spesielt under medikamentell behandling. Disse nye startstedene er vanligvis lokalisert i områder av genomet som vanligvis ikke produserer proteiner, og fører til dannelsen av nye RNA-molekyler som potensielt kan kode for proteiner.
Videre analyser viser at disse nye RNA-molekylene noen ganger kan slå seg sammen med eksisterende RNA-molekyler og danne såkalte TINAT-ekson-fusjonstranskripter. Avhengig av hvordan disse transkripsjonene spleises, kan de oversettes til nye, atypiske proteiner. Denne prosessen har blitt bekreftet gjennom laboratorieteknikker som viser at disse transkripsjonene faktisk kan føre til produksjon av nye proteinformer. Disse proteinene kan interagere unormalt i cellen eller bli gjenkjent som fremmede av immunforsvaret, noe som potensielt kan gi nye mål for kreftbehandling.
Aktiveringen av disse TINAT-ene innebærer kompliserte endringer i både DNA-metylering og histonmodifikasjoner, noe som illustrerer et komplekst samspill mellom disse epigenetiske faktorene under medikamentell behandling. Spesielt viser den kombinerte bruken av DAC og SB939 en større effekt, og øker uttrykket av disse nye transkripsjonene mer enn når et av medikamentene brukes alene. Forståelsen av disse interaksjonene og resultatene av dem bidrar til å klargjøre hvordan epigenetiske terapier endrer cellenes atferd, og åpner for muligheter for nye kreftbehandlinger som utnytter disse komplekse molekylære endringene.

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

NCI-H1299 RFP-cellene, som er modifisert til å inkludere en reporter i DAPK1-genet, er ikke bare nyttige for å studere spesifikk genaktivering, men gir også en bredere forståelse av hvordan celler reagerer på epigenetiske legemidler globalt. Ved hjelp av en teknikk som kalles Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), har forskerne kunnet kartlegge endringer i hvor transkripsjonen starter på tvers av genomet som respons på behandling med DNMTi (DAC), HDACi (SAHA eller SB939) eller kombinasjoner av disse. Denne metoden avslører ikke bare den forventede reaktiveringen av DAPK1-genet, men også fremveksten av nye transkripsjonsstartsteder, kalt behandlingsinduserte ikke-annoterte TSS-er (TINAT-er), spesielt under medikamentell behandling. Disse nye startstedene er vanligvis lokalisert i områder av genomet som vanligvis ikke produserer proteiner, og fører til dannelsen av nye RNA-molekyler som potensielt kan kode for proteiner.
Videre analyser viser at disse nye RNA-molekylene noen ganger kan slå seg sammen med eksisterende RNA-molekyler og danne såkalte TINAT-ekson-fusjonstranskripter. Avhengig av hvordan disse transkripsjonene spleises, kan de oversettes til nye, atypiske proteiner. Denne prosessen har blitt bekreftet gjennom laboratorieteknikker som viser at disse transkripsjonene faktisk kan føre til produksjon av nye proteinformer. Disse proteinene kan interagere unormalt i cellen eller bli gjenkjent som fremmede av immunforsvaret, noe som potensielt kan gi nye mål for kreftbehandling.
Aktiveringen av disse TINAT-ene innebærer kompliserte endringer i både DNA-metylering og histonmodifikasjoner, noe som illustrerer et komplekst samspill mellom disse epigenetiske faktorene under medikamentell behandling. Spesielt viser den kombinerte bruken av DAC og SB939 en større effekt, og øker uttrykket av disse nye transkripsjonene mer enn når et av medikamentene brukes alene. Forståelsen av disse interaksjonene og resultatene av dem bidrar til å klargjøre hvordan epigenetiske terapier endrer cellenes atferd, og åpner for muligheter for nye kreftbehandlinger som utnytter disse komplekse molekylære endringene.

Vev	Lunge
Sykdom	Storcellet karsinom
Metastaseområde	Primærsvulstens lokalisering (lunge)

Søknader

Forskning på epigenetisk terapi; reaktivering av DAPK1-genet; studier av respons på DNMTi- og HDACi-legemidler; behandlingsinduserte, ikke-annoterte transkripsjonsstartpunkter (TINAT-er); CAGE-transkriptomikk; analyse av fusjonstranskripter; atypisk proteinproduksjon fra kryptiske promotorer; screening av epigenetiske legemiddelkombinasjoner

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

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Vekstegenskaper	Tilhenger
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-status

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.

Biosikkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Epitel-lignende
Celletype	Epitelceller
Fordoblingstid	ca. 24 til 36 timer

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

NCI-H1299-EGFP, med G418-resistens og inaktivert reportergen (DKFZ # P-1045) (Cytion-katalognummer 300272)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

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

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.

Kosttilskudd

Suppler mediet med 10 % FBS

Dissosiasjonsmiddel	Accutase

Subkultivering

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Oppdelingsforhold	1 til 5
Såtetthet	1 til 3 × 10^4 celler/cm^2
Væskefornyelse	2 til 3 ganger per uke

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

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtaler med tredjeparter gjelder	Yes