Bunky NCI-H1299-RFP

300272

Bunky NCI-H1299 RFP, modifikované tak, aby obsahovali reportér v géne DAPK1, sú užitočné nielen na štúdium aktivácie špecifických génov, ale umožňujú aj širšie pochopenie toho, ako bunky reagujú na epigenetické lieky v globálnom meradle. Pomocou techniky nazývanej Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) vedci dokázali podrobne popísať zmeny v mieste začiatku transkripcie v celom genóme v reakcii na liečbu DNMTi (DAC), HDACi (SAHA alebo SB939) alebo ich kombináciami. Táto metóda odhaľuje nielen očakávanú reaktiváciu génu DAPK1, ale aj vznik nových miest štartu transkripcie, nazývaných liečbou indukované neanotované TSS (TINAT), najmä pri liečbe liekmi. Tieto nové štartovacie miesta sa zvyčajne nachádzajú v oblastiach genómu, ktoré zvyčajne neprodukujú proteíny, a vedú k vzniku nových molekúl RNA, ktoré by potenciálne mohli kódovať proteíny.
Ďalšia analýza ukazuje, že tieto nové molekuly RNA sa niekedy môžu spojiť s existujúcimi a vytvoriť takzvané fúzne transkripty TINAT-exon. V závislosti od toho, ako sú tieto transkripty spájané, sa môžu premeniť na nové, netypické proteíny. Tento proces bol potvrdený laboratórnymi technikami, ktoré dokazujú, že tieto transkripty môžu skutočne viesť k tvorbe nových foriem proteínov. Tieto proteíny môžu v bunke abnormálne interagovať alebo ich imunitný systém rozpozná ako cudzie, čo môže ponúknuť nové ciele pre liečbu rakoviny.
Aktivácia týchto TINAT zahŕňa zložité zmeny v metylácii DNA aj v modifikáciách histónov, čo ilustruje komplexnú interakciu medzi týmito epigenetickými faktormi pri liečbe liekmi. Najmä kombinované použitie DAC a SB939 vykazuje väčší účinok a zvyšuje expresiu týchto nových transkriptov viac, ako keď sa použije jedno z týchto liečiv samostatne. Pochopenie týchto interakcií a ich výsledkov pomáha objasniť, ako epigenetické terapie menia správanie buniek, a otvára možnosti pre novú liečbu rakoviny, ktorá využíva tieto komplexné molekulárne zmeny.

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

Bunky NCI-H1299 RFP, modifikované tak, aby obsahovali reportér v géne DAPK1, sú užitočné nielen na štúdium aktivácie špecifických génov, ale umožňujú aj širšie pochopenie toho, ako bunky reagujú na epigenetické lieky v globálnom meradle. Pomocou techniky nazývanej Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) vedci dokázali podrobne popísať zmeny v mieste začiatku transkripcie v celom genóme v reakcii na liečbu DNMTi (DAC), HDACi (SAHA alebo SB939) alebo ich kombináciami. Táto metóda odhaľuje nielen očakávanú reaktiváciu génu DAPK1, ale aj vznik nových miest štartu transkripcie, nazývaných liečbou indukované neanotované TSS (TINAT), najmä pri liečbe liekmi. Tieto nové štartovacie miesta sa zvyčajne nachádzajú v oblastiach genómu, ktoré zvyčajne neprodukujú proteíny, a vedú k vzniku nových molekúl RNA, ktoré by potenciálne mohli kódovať proteíny.
Ďalšia analýza ukazuje, že tieto nové molekuly RNA sa niekedy môžu spojiť s existujúcimi a vytvoriť takzvané fúzne transkripty TINAT-exon. V závislosti od toho, ako sú tieto transkripty spájané, sa môžu premeniť na nové, netypické proteíny. Tento proces bol potvrdený laboratórnymi technikami, ktoré dokazujú, že tieto transkripty môžu skutočne viesť k tvorbe nových foriem proteínov. Tieto proteíny môžu v bunke abnormálne interagovať alebo ich imunitný systém rozpozná ako cudzie, čo môže ponúknuť nové ciele pre liečbu rakoviny.
Aktivácia týchto TINAT zahŕňa zložité zmeny v metylácii DNA aj v modifikáciách histónov, čo ilustruje komplexnú interakciu medzi týmito epigenetickými faktormi pri liečbe liekmi. Najmä kombinované použitie DAC a SB939 vykazuje väčší účinok a zvyšuje expresiu týchto nových transkriptov viac, ako keď sa použije jedno z týchto liečiv samostatne. Pochopenie týchto interakcií a ich výsledkov pomáha objasniť, ako epigenetické terapie menia správanie buniek, a otvára možnosti pre novú liečbu rakoviny, ktorá využíva tieto komplexné molekulárne zmeny.

Tkanivo	Pľúca
Choroba	Veľkobunkový karcinóm
Miesto metastáz	Miesto primárneho nádoru (pľúca)

Aplikácie

Výskum epigenetickej terapie; reaktivácia génu DAPK1; štúdie reakcie na lieky typu DNMTi a HDACi; liečbou indukované neoznačené miesta začiatku transkripcie (TINAT); transkriptomika metódou CAGE; analýza fúznych transkriptov; produkcia atypických proteínov z kryptických promotérov; skríning kombinácií epigenetických liekov

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Človek
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Stav GMO	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

Podrobnosti o štatúte GMO

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.

Úroveň biologickej bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKY

Morfológia	Epitelu podobné
Typ bunky	Epitelové bunky
Doba zdvojnásobenia	približne 24 až 36 hodín

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

NCI-H1299-EGFP, s rezistenciou na G418 a potlačeným reportérom (DKFZ # P-1045) (katalógové číslo Cytion 300272)

Daňové identifikačné číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplnky stravy

Doplňte médium o 10 % FBS

Disociačné činidlo	Accutase

Rozmnožovanie kultúr

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Pomer rozdelenia	1 až 5
Hustota výsevu	1 až 3 × 10^4 buniek/cm^2
Obnova kvapaliny	2 až 3-krát týždenne

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

Rozmrazovanie a kultivácia

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVÁCIA

Sterilita

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Mrazové médium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Platia zmluvy s tretími stranami	Yes