Celice NCI-H1299-RFP

300272

Celice NCI-H1299 RFP, ki so bile spremenjene tako, da vključujejo poročevalec v genu DAPK1, niso uporabne le za preučevanje aktivacije določenega gena, temveč omogočajo tudi širše razumevanje, kako se celice globalno odzivajo na epigenetska zdravila. Z uporabo tehnike, imenovane Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), so raziskovalci lahko podrobno opredelili spremembe v tem, kje se začne transkripcija po genomu kot odziv na zdravljenje z DNMTi (DAC), HDACi (SAHA ali SB939) ali njihovimi kombinacijami. Ta metoda ne razkriva le pričakovane reaktivacije gena DAPK1, temveč tudi pojav novih začetnih mest transkripcije, imenovanih z zdravljenjem povzročeni neanotirani TSS (TINAT), zlasti pri zdravljenju z zdravili. Ta nova začetna mesta se običajno nahajajo v predelih genoma, kjer se običajno ne proizvajajo beljakovine, in vodijo v nastanek novih molekul RNK, ki bi lahko potencialno kodirale beljakovine.
Nadaljnja analiza je pokazala, da se te nove molekule RNK včasih lahko združijo z obstoječimi in tvorijo tako imenovane fuzijske transkripte TINAT-exon. Odvisno od tega, kako so ti transkripti zlepljeni, se lahko pretvorijo v nove, netipične beljakovine. Ta proces je bil potrjen z laboratorijskimi tehnikami, ki dokazujejo, da lahko ti transkripti dejansko privedejo do nastanka novih oblik beljakovin. Te beljakovine lahko v celici delujejo nenormalno ali pa jih imunski sistem prepozna kot tuje, kar lahko ponudi nove tarče za zdravljenje raka.
Aktivacija teh TINAT vključuje zapletene spremembe metilacije DNK in modifikacij histonov, kar ponazarja zapleteno interakcijo med temi epigenetskimi dejavniki pri zdravljenju z zdravili. Zlasti kombinirana uporaba DAC in SB939 kaže večji učinek, saj poveča izražanje teh novih transkriptov bolj, kot če se uporabi samo eno od zdravil. Razumevanje teh interakcij in njihovih rezultatov pomaga pojasniti, kako epigenetske terapije spreminjajo obnašanje celic, in odpira možnosti za nova zdravljenja raka, ki bi izkoristila te zapletene molekularne spremembe.

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celice NCI-H1299 RFP, ki so bile spremenjene tako, da vključujejo poročevalec v genu DAPK1, niso uporabne le za preučevanje aktivacije določenega gena, temveč omogočajo tudi širše razumevanje, kako se celice globalno odzivajo na epigenetska zdravila. Z uporabo tehnike, imenovane Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), so raziskovalci lahko podrobno opredelili spremembe v tem, kje se začne transkripcija po genomu kot odziv na zdravljenje z DNMTi (DAC), HDACi (SAHA ali SB939) ali njihovimi kombinacijami. Ta metoda ne razkriva le pričakovane reaktivacije gena DAPK1, temveč tudi pojav novih začetnih mest transkripcije, imenovanih z zdravljenjem povzročeni neanotirani TSS (TINAT), zlasti pri zdravljenju z zdravili. Ta nova začetna mesta se običajno nahajajo v predelih genoma, kjer se običajno ne proizvajajo beljakovine, in vodijo v nastanek novih molekul RNK, ki bi lahko potencialno kodirale beljakovine.
Nadaljnja analiza je pokazala, da se te nove molekule RNK včasih lahko združijo z obstoječimi in tvorijo tako imenovane fuzijske transkripte TINAT-exon. Odvisno od tega, kako so ti transkripti zlepljeni, se lahko pretvorijo v nove, netipične beljakovine. Ta proces je bil potrjen z laboratorijskimi tehnikami, ki dokazujejo, da lahko ti transkripti dejansko privedejo do nastanka novih oblik beljakovin. Te beljakovine lahko v celici delujejo nenormalno ali pa jih imunski sistem prepozna kot tuje, kar lahko ponudi nove tarče za zdravljenje raka.
Aktivacija teh TINAT vključuje zapletene spremembe metilacije DNK in modifikacij histonov, kar ponazarja zapleteno interakcijo med temi epigenetskimi dejavniki pri zdravljenju z zdravili. Zlasti kombinirana uporaba DAC in SB939 kaže večji učinek, saj poveča izražanje teh novih transkriptov bolj, kot če se uporabi samo eno od zdravil. Razumevanje teh interakcij in njihovih rezultatov pomaga pojasniti, kako epigenetske terapije spreminjajo obnašanje celic, in odpira možnosti za nova zdravljenja raka, ki bi izkoristila te zapletene molekularne spremembe.

Tkivo	Pljuča
Bolezen	Velikocelični karcinom
Mesto metastaze	Mesto primarnega tumorja (pljuča)

Uporaba

Raziskave na področju epigenetske terapije; ponovna aktivacija gena DAPK1; študije odziva na zdravila DNMTi in HDACi; z zdravljenjem povzročeni neoznačeni začetki transkripcije (TINAT); transkriptomika CAGE; analiza fuzijskih transkriptov; nastajanje atipičnih beljakovin iz skritih promotorjev; presejanje kombinacij epigenetskih zdravil

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Lastnosti rasti	Pripadnik
Status GSO	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 statusu GSO

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.

Stopnja biološke varnosti	1

ZNAČILNOSTI

Morfologija	Epitelijam podobni
Vrsta celice	Epitelijske celice
Čas podvojitve	približno 24 do 36 ur

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

NCI-H1299-EGFP, z odpornostjo proti G418 in utišanim poročevalcem (DKFZ št. P-1045) (kataloška številka Cytion 300272)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO3 (številka izdelka Cytion 820700a)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Razmerje delitve	1 do 5
Gostota setve	1 do 3 × 10^4 celic/cm^2
Obnova tekočine	2 do 3-krat na teden

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

Odtaljevanje in gojenje

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 KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.
Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Veljajo pogodbe s tretjimi strankami	Yes