NCI-H1299-RFP-celler

300272

NCI-H1299 RFP-cellerna, som modifierats för att inkludera en reporter i DAPK1-genen, är inte bara användbara för att studera specifik genaktivering utan ger också en bredare förståelse för hur celler reagerar på epigenetiska läkemedel globalt. Genom att använda en teknik som kallas Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) har forskarna i detalj kunnat se förändringar i var transkriptionen startar i genomet som svar på behandlingar med DNMTi (DAC), HDACi (SAHA eller SB939) eller kombinationer av dessa. Denna metod avslöjar inte bara den förväntade reaktiveringen av DAPK1-genen utan också uppkomsten av nya startplatser för transkription, så kallade behandlingsinducerade icke-annoterade TSS (TINAT), särskilt under läkemedelsbehandling. Dessa nya startställen är vanligtvis belägna i regioner i arvsmassan som vanligtvis inte producerar proteiner och leder till att nya RNA-molekyler skapas som potentiellt kan koda för proteiner.
Ytterligare analys visar att dessa nya RNA-molekyler ibland kan smälta samman med befintliga RNA-molekyler och bilda så kallade TINAT-exon-fusionstranskript. Beroende på hur dessa transkript splitsas kan de översättas till nya, atypiska proteiner. Denna process har bekräftats genom laboratorietekniker som visar att dessa transkript verkligen kan leda till produktion av nya proteinformer. Dessa proteiner kan interagera på ett onormalt sätt i cellen eller uppfattas som främmande av immunsystemet, vilket kan leda till nya mål för cancerbehandling. Aktiveringen av dessa TINATs innebär invecklade förändringar i både DNA-metylering och histonmodifieringar, vilket illustrerar ett komplext samspel mellan dessa epigenetiska faktorer under läkemedelsbehandling. Framför allt visar den kombinerade användningen av DAC och SB939 en större effekt och ökar uttrycket av dessa nya transkript mer än när något av läkemedlen används ensamt. Förståelsen av dessa interaktioner och deras resultat bidrar till att klargöra hur epigenetiska terapier förändrar cellbeteendet och öppnar möjligheter för nya cancerbehandlingar som utnyttjar dessa komplexa molekylära förändringar.

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

NCI-H1299 RFP-cellerna, som modifierats för att inkludera en reporter i DAPK1-genen, är inte bara användbara för att studera specifik genaktivering utan ger också en bredare förståelse för hur celler reagerar på epigenetiska läkemedel globalt. Genom att använda en teknik som kallas Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) har forskarna i detalj kunnat se förändringar i var transkriptionen startar i genomet som svar på behandlingar med DNMTi (DAC), HDACi (SAHA eller SB939) eller kombinationer av dessa. Denna metod avslöjar inte bara den förväntade reaktiveringen av DAPK1-genen utan också uppkomsten av nya startplatser för transkription, så kallade behandlingsinducerade icke-annoterade TSS (TINAT), särskilt under läkemedelsbehandling. Dessa nya startställen är vanligtvis belägna i regioner i arvsmassan som vanligtvis inte producerar proteiner och leder till att nya RNA-molekyler skapas som potentiellt kan koda för proteiner.
Ytterligare analys visar att dessa nya RNA-molekyler ibland kan smälta samman med befintliga RNA-molekyler och bilda så kallade TINAT-exon-fusionstranskript. Beroende på hur dessa transkript splitsas kan de översättas till nya, atypiska proteiner. Denna process har bekräftats genom laboratorietekniker som visar att dessa transkript verkligen kan leda till produktion av nya proteinformer. Dessa proteiner kan interagera på ett onormalt sätt i cellen eller uppfattas som främmande av immunsystemet, vilket kan leda till nya mål för cancerbehandling. Aktiveringen av dessa TINATs innebär invecklade förändringar i både DNA-metylering och histonmodifieringar, vilket illustrerar ett komplext samspel mellan dessa epigenetiska faktorer under läkemedelsbehandling. Framför allt visar den kombinerade användningen av DAC och SB939 en större effekt och ökar uttrycket av dessa nya transkript mer än när något av läkemedlen används ensamt. Förståelsen av dessa interaktioner och deras resultat bidrar till att klargöra hur epigenetiska terapier förändrar cellbeteendet och öppnar möjligheter för nya cancerbehandlingar som utnyttjar dessa komplexa molekylära förändringar.

Vävnad	Lungan
Sjukdom	Storcelligt karcinom
Metastaseringsställe	Primärtumörens lokalisation (lunga)

Ansökningar

Forskning om epigenetisk terapi; reaktivering av DAPK1-genen; studier av läkemedelsrespons på DNMTi- och HDACi-läkemedel; behandlingsinducerade icke-annoterade transkriptionsstartpunkter (TINAT); CAGE-transkriptomik; analys av fusionstranskript; atypisk proteinproduktion från kryptiska promotorer; screening av epigenetiska läkemedelskombinationer

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Tillväxtegenskaper	Följsam

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

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.

Biosäkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Epitelliknande
Celltyp	Epiteliala celler
Fördubblingstid	ca 24 till 36 timmar

IDENTIFIERARE

Källa

NCI-H1299-EGFP, med G418-resistens och inaktiverad reporter (DKFZ # P-1045) (Cytion-katalognummer 300272)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociationsmedel	Accutase

Vidareodling

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Uppdelningsförhållande	1 till 5
Såtäthet	1 till 3 × 10^4 celler/cm^2
Vätskeförnyelse	2 till 3 gånger per vecka

Upptining och odling

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 OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal med tredje part gäller	Yes