NCI-H1299-RFP Hücreleri

300272

DAPK1 geninde bir raportör içerecek şekilde modifiye edilen NCI-H1299 RFP hücreleri, yalnızca belirli gen aktivasyonunu incelemek için yararlı olmakla kalmıyor, aynı zamanda hücrelerin epigenetik ilaçlara küresel olarak nasıl tepki verdiğine dair daha geniş bir anlayış sağlıyor. Araştırmacılar, Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) adı verilen bir teknik kullanarak DNMTi (DAC), HDACi (SAHA veya SB939) veya bunların kombinasyonlarıyla yapılan tedavilere yanıt olarak genom boyunca transkripsiyonun başladığı yerlerdeki değişiklikleri detaylandırabilmişlerdir. Bu yöntem, sadece DAPK1 geninin beklenen yeniden aktivasyonunu değil, aynı zamanda özellikle ilaç tedavisi altında, tedaviye bağlı notlandırılmamış TSS'ler (TINAT'lar) olarak adlandırılan yeni transkripsiyon başlangıç bölgelerinin ortaya çıkışını da ortaya koymaktadır. Bu yeni başlangıç bölgeleri tipik olarak genomun genellikle protein üretmeyen bölgelerinde bulunur ve potansiyel olarak proteinleri kodlayabilecek yeni RNA moleküllerinin oluşmasına yol açar.
Daha ileri analizler, bu yeni RNA moleküllerinin bazen mevcut olanlarla birleşerek TINAT-ekson füzyon transkriptleri olarak bilinen transkriptleri oluşturabileceğini göstermektedir. Bu transkriptlerin nasıl eklendiğine bağlı olarak, yeni, atipik proteinlere dönüşebilirler. Bu süreç, bu transkriptlerin gerçekten de yeni protein formlarının üretimine yol açabileceğini gösteren laboratuvar teknikleriyle doğrulanmıştır. Bu proteinler hücre içinde anormal etkileşime girebilir veya bağışıklık sistemi tarafından yabancı olarak tanınabilir ve potansiyel olarak kanser tedavisi için yeni hedefler sunabilir.
Bu TINAT'ların aktivasyonu, hem DNA metilasyonunda hem de histon modifikasyonlarında karmaşık değişiklikler içerir ve ilaç tedavisi altındaki bu epigenetik faktörler arasında karmaşık bir etkileşim olduğunu gösterir. Özellikle, DAC ve SB939'un birlikte kullanımı, bu yeni transkriptlerin ifadesini her iki ilacın da tek başına kullanılmasından daha fazla artırarak daha büyük bir etki göstermektedir. Bu etkileşimleri ve sonuçlarını anlamak, epigenetik tedavilerin hücre davranışını nasıl değiştirdiğini netleştirmeye yardımcı olur ve bu karmaşık moleküler değişikliklerden yararlanan yeni kanser tedavileri için olanaklar sunar.

GENEL BILGILER

Açıklama

DAPK1 geninde bir raportör içerecek şekilde modifiye edilen NCI-H1299 RFP hücreleri, yalnızca belirli gen aktivasyonunu incelemek için yararlı olmakla kalmıyor, aynı zamanda hücrelerin epigenetik ilaçlara küresel olarak nasıl tepki verdiğine dair daha geniş bir anlayış sağlıyor. Araştırmacılar, Cap Analysis of Gene Expression (CAGE) adı verilen bir teknik kullanarak DNMTi (DAC), HDACi (SAHA veya SB939) veya bunların kombinasyonlarıyla yapılan tedavilere yanıt olarak genom boyunca transkripsiyonun başladığı yerlerdeki değişiklikleri detaylandırabilmişlerdir. Bu yöntem, sadece DAPK1 geninin beklenen yeniden aktivasyonunu değil, aynı zamanda özellikle ilaç tedavisi altında, tedaviye bağlı notlandırılmamış TSS'ler (TINAT'lar) olarak adlandırılan yeni transkripsiyon başlangıç bölgelerinin ortaya çıkışını da ortaya koymaktadır. Bu yeni başlangıç bölgeleri tipik olarak genomun genellikle protein üretmeyen bölgelerinde bulunur ve potansiyel olarak proteinleri kodlayabilecek yeni RNA moleküllerinin oluşmasına yol açar.
Daha ileri analizler, bu yeni RNA moleküllerinin bazen mevcut olanlarla birleşerek TINAT-ekson füzyon transkriptleri olarak bilinen transkriptleri oluşturabileceğini göstermektedir. Bu transkriptlerin nasıl eklendiğine bağlı olarak, yeni, atipik proteinlere dönüşebilirler. Bu süreç, bu transkriptlerin gerçekten de yeni protein formlarının üretimine yol açabileceğini gösteren laboratuvar teknikleriyle doğrulanmıştır. Bu proteinler hücre içinde anormal etkileşime girebilir veya bağışıklık sistemi tarafından yabancı olarak tanınabilir ve potansiyel olarak kanser tedavisi için yeni hedefler sunabilir.
Bu TINAT'ların aktivasyonu, hem DNA metilasyonunda hem de histon modifikasyonlarında karmaşık değişiklikler içerir ve ilaç tedavisi altındaki bu epigenetik faktörler arasında karmaşık bir etkileşim olduğunu gösterir. Özellikle, DAC ve SB939'un birlikte kullanımı, bu yeni transkriptlerin ifadesini her iki ilacın da tek başına kullanılmasından daha fazla artırarak daha büyük bir etki göstermektedir. Bu etkileşimleri ve sonuçlarını anlamak, epigenetik tedavilerin hücre davranışını nasıl değiştirdiğini netleştirmeye yardımcı olur ve bu karmaşık moleküler değişikliklerden yararlanan yeni kanser tedavileri için olanaklar sunar.

Doku	Akciğer
Hastalık	Büyük hücreli karsinom
Metastaz yeri	Birincil tümörün yeri (akciğer)

Uygulamalar

Epigenetik tedavi araştırmaları; DAPK1 geninin yeniden aktivasyonu; DNMTi ve HDACi ilaç yanıtı çalışmaları; tedaviye bağlı, henüz tanımlanmamış transkripsiyon başlangıç noktaları (TINAT'lar); CAGE transkriptomikleri; füzyon transkript analizi; gizli promotörlerden atipik protein üretimi; epigenetik ilaç kombinasyon taraması

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

SINIFLANDIRMA

Canlı	İnsan
Büyüme özellikleri	Bağlı
GDO durumu	GMO-S1

GDO durumuna ilişkin ayrıntılar

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.

Biyogüvenlik seviyesi	1

ÖZELLIKLER

Morfoloji	Epitel benzeri
Hücre türü	Epitel hücreleri
İki katına çıkma süresi	yaklaşık 24 ila 36 saat

TANIMLAYICILAR

Kaynak gösterimi

G418 direnci ve susturulmuş raportör içeren NCI-H1299-EGFP (DKFZ # P-1045) (Cytion katalog numarası 300272)

NCBI Vergi Kimlik Numarası	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

İŞLEME VE YETIŞTIRME

Besiyeri

RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L $NaHCO_3$ (Cytion makale numarası 820700a)

Kuluçka ortamı	37°C, %5CO_2, nemlendirilmiş atmosfer.

Takviyeler

Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Ayrıştırma reaktifi	Accutase

Alt kültür oluşturma

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Bölünme oranı	1'den 5'e kadar
Ekim yoğunluğu	1 ila 3 × 10^4 hücre/cm^2
Sıvı değişimi	haftada 2 ila 3 kez

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

Çözme ve kültürleme

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.

KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

Kısırlık

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

Dondurma ortamı	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Saklama koşulları

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Nakliye koşulları

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

YASAL VE GÜVENLIK

Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

Üçüncü taraf sözleşmeleri geçerlidir	Yes