Клітини NCI-H1299-RFP

300272

Клітини NCI-H1299 RFP, модифіковані для включення репортера в ген DAPK1, не тільки корисні для вивчення специфічної активації генів, але й забезпечують більш широке розуміння того, як клітини реагують на епігенетичні препарати в усьому світі. Використовуючи методику під назвою Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), дослідники змогли детально проаналізувати зміни в місцях початку транскрипції в геномі у відповідь на лікування препаратами DNMTi (DAC), HDACi (SAHA або SB939) або їх комбінаціями. Цей метод виявляє не лише очікувану реактивацію гена DAPK1, але й появу нових сайтів запуску транскрипції, які називаються індукованими лікуванням неанотованими сайтами запуску транскрипції (TSS), особливо під час лікування препаратами. Ці нові сайти, як правило, розташовані в ділянках геному, які зазвичай не продукують білки, і призводять до створення нових молекул РНК, які потенційно можуть кодувати білки.
Подальший аналіз показує, що ці нові молекули РНК іноді можуть зливатися з існуючими, утворюючи так звані транскрипти злиття TINAT-екзонів. Залежно від того, як ці транскрипти зрощуються, вони можуть перетворюватися на нові, нетипові білки. Цей процес був підтверджений лабораторними методами, які демонструють, що ці транскрипти дійсно можуть призводити до утворення нових форм білків. Ці білки можуть аномально взаємодіяти всередині клітини або розпізнаватися імунною системою як чужорідні, потенційно пропонуючи нові мішені для терапії раку.
Активація цих TINAT включає складні зміни в метилюванні ДНК та модифікації гістонів, що ілюструє складну взаємодію між цими епігенетичними факторами під час медикаментозного лікування. Зокрема, комбіноване застосування DAC та SB939 демонструє більший ефект, посилюючи експресію цих нових транскриптів більше, ніж при застосуванні кожного з препаратів окремо. Розуміння цих взаємодій та їх результатів допомагає з'ясувати, як епігенетична терапія змінює поведінку клітин, і відкриває можливості для нових методів лікування раку, які використовують ці складні молекулярні зміни.

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

Клітини NCI-H1299 RFP, модифіковані для включення репортера в ген DAPK1, не тільки корисні для вивчення специфічної активації генів, але й забезпечують більш широке розуміння того, як клітини реагують на епігенетичні препарати в усьому світі. Використовуючи методику під назвою Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), дослідники змогли детально проаналізувати зміни в місцях початку транскрипції в геномі у відповідь на лікування препаратами DNMTi (DAC), HDACi (SAHA або SB939) або їх комбінаціями. Цей метод виявляє не лише очікувану реактивацію гена DAPK1, але й появу нових сайтів запуску транскрипції, які називаються індукованими лікуванням неанотованими сайтами запуску транскрипції (TSS), особливо під час лікування препаратами. Ці нові сайти, як правило, розташовані в ділянках геному, які зазвичай не продукують білки, і призводять до створення нових молекул РНК, які потенційно можуть кодувати білки.
Подальший аналіз показує, що ці нові молекули РНК іноді можуть зливатися з існуючими, утворюючи так звані транскрипти злиття TINAT-екзонів. Залежно від того, як ці транскрипти зрощуються, вони можуть перетворюватися на нові, нетипові білки. Цей процес був підтверджений лабораторними методами, які демонструють, що ці транскрипти дійсно можуть призводити до утворення нових форм білків. Ці білки можуть аномально взаємодіяти всередині клітини або розпізнаватися імунною системою як чужорідні, потенційно пропонуючи нові мішені для терапії раку.
Активація цих TINAT включає складні зміни в метилюванні ДНК та модифікації гістонів, що ілюструє складну взаємодію між цими епігенетичними факторами під час медикаментозного лікування. Зокрема, комбіноване застосування DAC та SB939 демонструє більший ефект, посилюючи експресію цих нових транскриптів більше, ніж при застосуванні кожного з препаратів окремо. Розуміння цих взаємодій та їх результатів допомагає з'ясувати, як епігенетична терапія змінює поведінку клітин, і відкриває можливості для нових методів лікування раку, які використовують ці складні молекулярні зміни.

Тканина	Легені
Хвороба	Великоклітинна карцинома
Місце метастазування	Локалізація первинної пухлини (легені)

Застосування

Дослідження в галузі епігенетичної терапії; реактивація гена DAPK1; дослідження реакції на препарати класу DNMTi та HDACi; неаннотовані точки старту транскрипції (TINAT), індуковані лікуванням; транскриптоміка методом CAGE; аналіз фузійних транскриптів; синтез атипових білків із прихованих промоторів; скринінг епігенетичних комбінацій лікарських засобів

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

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	GMO-S1

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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.

Рівень біобезпеки	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Епітеліальноподібні
Тип клітини	Епітеліальні клітини
Час подвоєння	приблизно від 24 до 36 годин

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

NCI-H1299-EGFP, з резистентністю до G418 та приглушеним репортером (DKFZ № P-1045) (номер у каталозі Cytion 300272)

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	CVCL_XB25

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л $NaHCO_3$ (номер за каталожним номером 820700a)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO_2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS

Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Коефіцієнт розподілу	від 1 до 5
Щільність висіву	від 1 до 3 × 10^4 клітин/$см^2$
Оновлення рідини	2-3 рази на тиждень

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

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Діють угоди з третіми сторонами	Yes