Células NCI-H1299-RFP

300272

Las células NCI-H1299 RFP, modificadas para incluir un reportero en el gen DAPK1, no sólo son útiles para estudiar la activación de genes específicos, sino que también proporcionan una comprensión más amplia de cómo reaccionan las células a los fármacos epigenéticos de forma global. Mediante el uso de una técnica denominada Análisis de Capas de Expresión Génica (CAGE, por sus siglas en inglés), los investigadores han podido detallar los cambios en el lugar donde se inicia la transcripción en todo el genoma en respuesta a tratamientos con DNMTi (DAC), HDACi (SAHA o SB939), o sus combinaciones. Este método revela no sólo la reactivación esperada del gen DAPK1, sino también la aparición de nuevos lugares de inicio de la transcripción, denominados TSSs no anotados inducidos por el tratamiento (TINATs), especialmente bajo tratamiento farmacológico. Estos nuevos sitios de inicio suelen estar situados en regiones del genoma que no suelen producir proteínas y conducen a la creación de nuevas moléculas de ARN que podrían codificar proteínas.
Un análisis más detallado muestra que estas nuevas moléculas de ARN a veces pueden fusionarse con otras ya existentes para formar lo que se conoce como transcritos de fusión TINAT-exón. Dependiendo de cómo se empalmen estos transcritos, pueden traducirse en proteínas nuevas y atípicas. Este proceso se ha confirmado mediante técnicas de laboratorio que demuestran que estos transcritos pueden efectivamente dar lugar a la producción de nuevas formas proteicas. Estas proteínas podrían interactuar de forma anómala dentro de la célula o ser reconocidas como extrañas por el sistema inmunitario, ofreciendo potencialmente nuevas dianas para la terapia del cáncer.
La activación de estas TINAT implica cambios intrincados tanto en la metilación del ADN como en las modificaciones de las histonas, lo que ilustra una compleja interacción entre estos factores epigenéticos bajo tratamiento farmacológico. En particular, el uso combinado de DAC y SB939 muestra un mayor efecto, potenciando la expresión de estos nuevos transcritos más que cuando se utiliza cualquiera de los dos fármacos por separado. Entender estas interacciones y sus resultados ayuda a aclarar cómo las terapias epigenéticas alteran el comportamiento celular y abre posibilidades para nuevos tratamientos contra el cáncer que aprovechen estos complejos cambios moleculares.

INFORMACIÓN GENERAL

Descripción

Las células NCI-H1299 RFP, modificadas para incluir un reportero en el gen DAPK1, no sólo son útiles para estudiar la activación de genes específicos, sino que también proporcionan una comprensión más amplia de cómo reaccionan las células a los fármacos epigenéticos de forma global. Mediante el uso de una técnica denominada Análisis de Capas de Expresión Génica (CAGE, por sus siglas en inglés), los investigadores han podido detallar los cambios en el lugar donde se inicia la transcripción en todo el genoma en respuesta a tratamientos con DNMTi (DAC), HDACi (SAHA o SB939), o sus combinaciones. Este método revela no sólo la reactivación esperada del gen DAPK1, sino también la aparición de nuevos lugares de inicio de la transcripción, denominados TSSs no anotados inducidos por el tratamiento (TINATs), especialmente bajo tratamiento farmacológico. Estos nuevos sitios de inicio suelen estar situados en regiones del genoma que no suelen producir proteínas y conducen a la creación de nuevas moléculas de ARN que podrían codificar proteínas.
Un análisis más detallado muestra que estas nuevas moléculas de ARN a veces pueden fusionarse con otras ya existentes para formar lo que se conoce como transcritos de fusión TINAT-exón. Dependiendo de cómo se empalmen estos transcritos, pueden traducirse en proteínas nuevas y atípicas. Este proceso se ha confirmado mediante técnicas de laboratorio que demuestran que estos transcritos pueden efectivamente dar lugar a la producción de nuevas formas proteicas. Estas proteínas podrían interactuar de forma anómala dentro de la célula o ser reconocidas como extrañas por el sistema inmunitario, ofreciendo potencialmente nuevas dianas para la terapia del cáncer.
La activación de estas TINAT implica cambios intrincados tanto en la metilación del ADN como en las modificaciones de las histonas, lo que ilustra una compleja interacción entre estos factores epigenéticos bajo tratamiento farmacológico. En particular, el uso combinado de DAC y SB939 muestra un mayor efecto, potenciando la expresión de estos nuevos transcritos más que cuando se utiliza cualquiera de los dos fármacos por separado. Entender estas interacciones y sus resultados ayuda a aclarar cómo las terapias epigenéticas alteran el comportamiento celular y abre posibilidades para nuevos tratamientos contra el cáncer que aprovechen estos complejos cambios moleculares.

Pañuelo de papel	Pulmón
Enfermedad	Carcinoma de células grandes
Lugar de metástasis	Localización del tumor primario (pulmón)

Aplicaciones

Investigación en terapia epigenética; reactivación del gen DAPK1; estudios sobre la respuesta a fármacos DNMTi e HDACi; sitios de inicio de transcripción no anotados inducidos por el tratamiento (TINAT); transcriptómica CAGE; análisis de transcritos de fusión; producción de proteínas atípicas a partir de promotores crípticos; cribado de combinaciones de fármacos epigenéticos

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

CLASIFICACIÓN

Organismo	Humano
Propiedades de crecimiento	Adherente
Situación respecto a los OMG	GMO-S1

Detalles sobre la presencia de OMG

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.

Nivel de bioseguridad	1

CARACTERÍSTICAS

Morfología	De tipo epitelial
Tipo de célula	Células epiteliales
Tiempo de duplicación	entre 24 y 36 horas, aproximadamente

IDENTIFICADORES

Referencia

NCI-H1299-EGFP, con resistencia al G418 y reportero silenciado (DKFZ n.º P-1045) (número de catálogo de Cytion 300272)

N.º de identificación fiscal del NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

MANEJO Y CULTIVO

Medio de cultivo

RPMI 1640, con: 2,0 mM de glutamina estable, con: 2,0 g/L de NaHCO3 (número de artículo de Cytion 820700a)

Atmósfera de incubación	37°C, 5%CO2, atmósfera humidificada.

Suplementos

Complementar el medio con un 10% de FBS

Reactivo de disociación	Accutase

Subcultivo

Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Relación de división	Del 1 al 5
Densidad de siembra	De 1 a 3 × 10^4 células/cm^2
Renovación de fluidos	de 2 a 3 veces por semana

Descongelación y cultivo

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.

CONTROL DE CALIDAD Y CRIOPRESERVACIÓN

Esterilidad

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.
Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Medio de congelación	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Condiciones de almacenamiento

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Condiciones de envío

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

ASPECTOS LEGALES Y DE SEGURIDAD

Medidas de seguridad

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su futura descongelación, es obligatorio cumplir estrictas medidas de seguridad. Es esencial utilizar guantes y ropa de protección adecuados, así como una mascarilla o gafas de seguridad durante el traslado de muestras congeladas desde o hacia el tanque de nitrógeno líquido. Con ello se pretende mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones crioviales al extraerlas, que pueden dar lugar a la proyección de fragmentos afilados.

Garantía

En Cytion, respaldamos la calidad y viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante los 60 días posteriores al envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales se ajustan a las especificaciones descritas en el Certificado de Análisis y/o Hoja de Producto
Para más información, consulte nuestra <a href=""/Quiénes somos/Garantía/"" hreflang=""x-default"">Declaración de garantía

Se aplican los acuerdos con terceros	Yes