Células NCI-H1299-RFP

300272

Las células NCI-H1299 RFP, modificadas para incluir un reportero en el gen DAPK1, no solo son útiles para estudiar la activación de genes específicos, sino que también permiten comprender mejor cómo reaccionan las células a los fármacos epigenéticos en general. Mediante el uso de una técnica llamada Análisis de la Expresión Génica por Cap (CAGE), los investigadores han podido detallar los cambios en los puntos de inicio de la transcripción a lo largo del genoma en respuesta a tratamientos con DNMTi (DAC), HDACi (SAHA o SB939) o sus combinaciones. Este método revela no solo la reactivación esperada del gen DAPK1, sino también la aparición de nuevos sitios de inicio de transcripción, denominados TSS no anotados inducidos por el tratamiento (TINAT), especialmente bajo tratamiento farmacológico. Estos nuevos sitios de inicio suelen ubicarse en regiones del genoma que normalmente no producen proteínas y dan lugar 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 las 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, de hecho, dar lugar a la producción de nuevas formas de proteínas. Estas proteínas podrían interactuar de manera anómala dentro de la célula o ser reconocidas como extrañas por el sistema inmunológico, lo que podría ofrecer nuevas dianas para la terapia contra el cáncer.
La activación de estos TINAT implica cambios intrincados tanto en la metilación del ADN como en las modificaciones de las histonas, lo que ilustra una interacción compleja 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 fármacos por sí solo. Comprender 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.

GENERAL INFORMATION

Description

Las células NCI-H1299 RFP, modificadas para incluir un reportero en el gen DAPK1, no solo son útiles para estudiar la activación de genes específicos, sino que también permiten comprender mejor cómo reaccionan las células a los fármacos epigenéticos en general. Mediante el uso de una técnica llamada Análisis de la Expresión Génica por Cap (CAGE), los investigadores han podido detallar los cambios en los puntos de inicio de la transcripción a lo largo del genoma en respuesta a tratamientos con DNMTi (DAC), HDACi (SAHA o SB939) o sus combinaciones. Este método revela no solo la reactivación esperada del gen DAPK1, sino también la aparición de nuevos sitios de inicio de transcripción, denominados TSS no anotados inducidos por el tratamiento (TINAT), especialmente bajo tratamiento farmacológico. Estos nuevos sitios de inicio suelen ubicarse en regiones del genoma que normalmente no producen proteínas y dan lugar 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 las 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, de hecho, dar lugar a la producción de nuevas formas de proteínas. Estas proteínas podrían interactuar de manera anómala dentro de la célula o ser reconocidas como extrañas por el sistema inmunológico, lo que podría ofrecer nuevas dianas para la terapia contra el cáncer.
La activación de estos TINAT implica cambios intrincados tanto en la metilación del ADN como en las modificaciones de las histonas, lo que ilustra una interacción compleja 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 fármacos por sí solo. Comprender 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.

Tissue	Pulmón
Disease	Carcinoma de células grandes
Metastatic site	Localización del tumor primario (pulmón)

Applications

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

CLASSIFICATION

Organism	Human
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliales
Doubling time	aprox. de 24 a 36 horas

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, con 2,0 mM de glutamina estable y 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (número de artículo de Cytion: 820700a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Supplements

Añade al medio un 10 % de FBS

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspendarlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfiéralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Split ratio	Del 1 al 5
Seeding density	De 1 a 3 × 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana

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

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.
Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

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

Storage conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Shipping conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su descongelación futura, es obligatorio cumplir con estrictas medidas de seguridad. Es esencial contar con guantes y ropa de protección adecuados, y se requiere el uso de una mascarilla o lentes de seguridad durante la transferencia de muestras congeladas hacia o desde el tanque de nitrógeno líquido. Esto tiene como objetivo mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones de los criotubos al retirarlos, lo que puede provocar la proyección de fragmentos afilados.

Warranty

En Cytion, respaldamos la calidad y la viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante
60 días a partir de la fecha de envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales cumplen con las especificaciones descritas en el
Certificado de Análisis y/o la Ficha del Producto.
Para obtener más detalles, consulte nuestra
Declaración de garantía.

Third-party agreements apply	Yes