Cellules NCI-H1299-RFP

300272

Les cellules NCI-H1299 RFP, modifiées pour inclure un rapporteur dans le gène DAPK1, ne sont pas seulement utiles pour étudier l'activation de gènes spécifiques, mais permettent également de mieux comprendre comment les cellules réagissent aux médicaments épigénétiques dans leur ensemble. En utilisant une technique appelée Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), les chercheurs ont pu détailler les changements au niveau du démarrage de la transcription dans le génome en réponse à des traitements par DNMTi (DAC), HDACi (SAHA ou SB939), ou leurs combinaisons. Cette méthode révèle non seulement la réactivation attendue du gène DAPK1, mais aussi l'émergence de nouveaux sites de démarrage de la transcription, appelés TSS non annotés induits par le traitement (TINAT), en particulier sous traitement médicamenteux. Ces nouveaux sites de démarrage sont généralement situés dans des régions du génome qui ne produisent habituellement pas de protéines et conduisent à la création de nouvelles molécules d'ARN qui pourraient potentiellement coder pour des protéines.
Une analyse plus poussée montre que ces nouvelles molécules d'ARN peuvent parfois fusionner avec des molécules existantes pour former ce que l'on appelle des transcrits de fusion TINAT-exon. Selon la manière dont ces transcrits sont épissés, ils peuvent se traduire par de nouvelles protéines atypiques. Ce processus a été confirmé par des techniques de laboratoire qui démontrent que ces transcrits peuvent effectivement conduire à la production de nouvelles formes de protéines. Ces protéines peuvent interagir de manière anormale au sein de la cellule ou être reconnues comme étrangères par le système immunitaire, ce qui pourrait constituer de nouvelles cibles pour les traitements anticancéreux.
L'activation de ces TINATs implique des changements complexes dans la méthylation de l'ADN et les modifications des histones, illustrant une interaction complexe entre ces facteurs épigénétiques sous traitement médicamenteux. En particulier, l'utilisation combinée de DAC et de SB939 a un effet plus important, stimulant l'expression de ces nouveaux transcrits plus que lorsque l'un ou l'autre des médicaments est utilisé seul. La compréhension de ces interactions et de leurs résultats aide à clarifier la façon dont les thérapies épigénétiques modifient le comportement des cellules et ouvre la voie à de nouveaux traitements contre le cancer qui tirent parti de ces changements moléculaires complexes.

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Description

Les cellules NCI-H1299 RFP, modifiées pour inclure un rapporteur dans le gène DAPK1, ne sont pas seulement utiles pour étudier l'activation de gènes spécifiques, mais permettent également de mieux comprendre comment les cellules réagissent aux médicaments épigénétiques dans leur ensemble. En utilisant une technique appelée Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), les chercheurs ont pu détailler les changements au niveau du démarrage de la transcription dans le génome en réponse à des traitements par DNMTi (DAC), HDACi (SAHA ou SB939), ou leurs combinaisons. Cette méthode révèle non seulement la réactivation attendue du gène DAPK1, mais aussi l'émergence de nouveaux sites de démarrage de la transcription, appelés TSS non annotés induits par le traitement (TINAT), en particulier sous traitement médicamenteux. Ces nouveaux sites de démarrage sont généralement situés dans des régions du génome qui ne produisent habituellement pas de protéines et conduisent à la création de nouvelles molécules d'ARN qui pourraient potentiellement coder pour des protéines.
Une analyse plus poussée montre que ces nouvelles molécules d'ARN peuvent parfois fusionner avec des molécules existantes pour former ce que l'on appelle des transcrits de fusion TINAT-exon. Selon la manière dont ces transcrits sont épissés, ils peuvent se traduire par de nouvelles protéines atypiques. Ce processus a été confirmé par des techniques de laboratoire qui démontrent que ces transcrits peuvent effectivement conduire à la production de nouvelles formes de protéines. Ces protéines peuvent interagir de manière anormale au sein de la cellule ou être reconnues comme étrangères par le système immunitaire, ce qui pourrait constituer de nouvelles cibles pour les traitements anticancéreux.
L'activation de ces TINATs implique des changements complexes dans la méthylation de l'ADN et les modifications des histones, illustrant une interaction complexe entre ces facteurs épigénétiques sous traitement médicamenteux. En particulier, l'utilisation combinée de DAC et de SB939 a un effet plus important, stimulant l'expression de ces nouveaux transcrits plus que lorsque l'un ou l'autre des médicaments est utilisé seul. La compréhension de ces interactions et de leurs résultats aide à clarifier la façon dont les thérapies épigénétiques modifient le comportement des cellules et ouvre la voie à de nouveaux traitements contre le cancer qui tirent parti de ces changements moléculaires complexes.

Tissu	Poumon
Maladie	Carcinome à grandes cellules
Site métastatique	Localisation de la tumeur primaire (poumon)

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

Applications

Recherche en thérapie épigénétique ; réactivation du gène DAPK1 ; études sur la réponse aux médicaments DNMTi et HDACi ; sites de début de transcription non annotés induits par le traitement (TINAT) ; transcriptomique CAGE ; analyse des transcrits de fusion ; production de protéines atypiques à partir de promoteurs cryptiques ; criblage de combinaisons de médicaments épigénétiques

CLASSIFICATION

Organisme	Humain
Propriétés de croissance	Adepte
Statut OGM	GMO-S1

Informations détaillées sur le statut OGM

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.

Niveau de biosécurité	1

CARACTÉRISTIQUES

Morphologie	De type épithélial
Type de cellule	Cellules épithéliales
Temps de doublement	environ 24 à 36 heures

IDENTIFIANTS

Référence

NCI-H1299-EGFP, avec résistance au G418 et gène rapporteur désactivé (DKFZ n° P-1045) (référence Cytion 300272)

Numéro d'identification fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

MANIPULATION ET CULTURE

Milieu de culture

RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)

Atmosphère d'incubation	37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée.

Compléments alimentaires

Compléter le milieu avec 10% de FBS

Réactif de dissociation	Accutase

Repiquage

Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Rapport de fractionnement	1 à 5
Densité de semis	1 à 3 × 10^4 cellules/cm^2

Renouvellement des fluides	2 à 3 fois par semaine

Décongélation et mise en culture

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.

CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

Stérilité

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.
Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Milieu de congélation	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Conditions de stockage

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Conditions de livraison

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

Consignes de sécurité

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

Garantie

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

Les accords conclus avec des tiers s'appliquent	Yes