Cellules NCI-H1299-RFP

300272

Les cellules RFP NCI-H1299, modifiées pour intégrer un gène rapporteur dans le gène DAPK1, sont non seulement utiles pour étudier l'activation de gènes spécifiques, mais elles permettent également de mieux comprendre, de manière globale, comment les cellules réagissent aux médicaments épigénétiques. En utilisant une technique appelée « analyse CAGE » (Cap Analysis of Gene Expression), les chercheurs ont pu détailler les changements dans les sites de début de transcription à l'échelle du 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 d'initiation de la transcription, appelés TSS non annotés induits par le traitement (TINAT), en particulier sous l'effet d'un traitement médicamenteux. Ces nouveaux sites d'initiation 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 susceptibles de coder pour des protéines.
Une analyse plus approfondie montre que ces nouvelles molécules d'ARN peuvent parfois fusionner avec des molécules existantes pour former ce qu'on appelle des transcrits de fusion TINAT-exon. Selon la manière dont ces transcrits sont épissés, ils peuvent se traduire en nouvelles protéines atypiques. Ce processus a été confirmé par des techniques de laboratoire démontrant que ces transcrits peuvent effectivement mener à la production de nouvelles formes protéiques. Ces protéines pourraient interagir de manière anormale au sein de la cellule ou être reconnues comme étrangères par le système immunitaire, offrant ainsi potentiellement de nouvelles cibles pour le traitement du cancer.
L'activation de ces TINAT implique des changements complexes tant au niveau de la méthylation de l'ADN que des modifications des histones, illustrant une interaction complexe entre ces facteurs épigénétiques sous l'effet d'un traitement médicamenteux. En particulier, l'utilisation combinée du DAC et du SB939 se révèle plus efficace, stimulant l'expression de ces nouveaux transcrits davantage que lorsque l'un ou l'autre de ces médicaments est utilisé seul. La compréhension de ces interactions et de leurs conséquences aide à clarifier comment les thérapies épigénétiques modifient le comportement cellulaire et ouvre la voie à de nouveaux traitements contre le cancer qui tirent parti de ces changements moléculaires complexes.

GENERAL INFORMATION

Description

Les cellules RFP NCI-H1299, modifiées pour intégrer un gène rapporteur dans le gène DAPK1, sont non seulement utiles pour étudier l'activation de gènes spécifiques, mais elles permettent également de mieux comprendre, de manière globale, comment les cellules réagissent aux médicaments épigénétiques. En utilisant une technique appelée « analyse CAGE » (Cap Analysis of Gene Expression), les chercheurs ont pu détailler les changements dans les sites de début de transcription à l'échelle du 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 d'initiation de la transcription, appelés TSS non annotés induits par le traitement (TINAT), en particulier sous l'effet d'un traitement médicamenteux. Ces nouveaux sites d'initiation 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 susceptibles de coder pour des protéines.
Une analyse plus approfondie montre que ces nouvelles molécules d'ARN peuvent parfois fusionner avec des molécules existantes pour former ce qu'on appelle des transcrits de fusion TINAT-exon. Selon la manière dont ces transcrits sont épissés, ils peuvent se traduire en nouvelles protéines atypiques. Ce processus a été confirmé par des techniques de laboratoire démontrant que ces transcrits peuvent effectivement mener à la production de nouvelles formes protéiques. Ces protéines pourraient interagir de manière anormale au sein de la cellule ou être reconnues comme étrangères par le système immunitaire, offrant ainsi potentiellement de nouvelles cibles pour le traitement du cancer.
L'activation de ces TINAT implique des changements complexes tant au niveau de la méthylation de l'ADN que des modifications des histones, illustrant une interaction complexe entre ces facteurs épigénétiques sous l'effet d'un traitement médicamenteux. En particulier, l'utilisation combinée du DAC et du SB939 se révèle plus efficace, stimulant l'expression de ces nouveaux transcrits davantage que lorsque l'un ou l'autre de ces médicaments est utilisé seul. La compréhension de ces interactions et de leurs conséquences aide à clarifier comment les thérapies épigénétiques modifient le comportement cellulaire et ouvre la voie à de nouveaux traitements contre le cancer qui tirent parti de ces changements moléculaires complexes.

Tissue	Poumon
Disease	Carcinome à grandes cellules
Metastatic site	Site 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

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 type épithélial
Cell type	Cellules épithéliales
Doubling time	environ 24 à 36 heures

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_XB25

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Supplements

Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio	1 à 5
Seeding density	de 1 à 3 × 10^4 cellules/cm^2

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

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

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

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.
Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Storage conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l’azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L’entreposage à −80 °C n’est acceptable qu’à titre d’étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l’azote liquide.

Shipping conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d’environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu’on prévoit entreposer un cryotube dans de l’azote liquide en vue d’une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l’utilisation d’un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d’échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d’azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d’éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant
60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le
certificat d’analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre
déclaration de garantie.

Third-party agreements apply	Yes

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