

Células NCI-H1299-RFP | 300272**Información general****Description**

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 TSS no anotados inducidos por el tratamiento (TINAT), especialmente bajo tratamiento farmacológico. Estos nuevos sitios de inicio suelen estar situados en regiones del genoma que no suelen producir 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 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.

Organism Humano**Tissue** Pulmón**Disease** Carcinoma de células grandes**Características****Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios**

Células NCI-H1299-RFP | 300272

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

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_xB25

Datos biomoleculares**Manejo de**

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

Supplements Complementar el medio con un 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing 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.

Split ratio Se recomienda una proporción de 1:3 a 1:4

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Freeze medium 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.

Células NCI-H1299-RFP | 300272

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

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.

Shipping Conditions

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.

Células NCI-H1299-RFP | 300272

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque 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.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

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.

Perfil de STR

Amelogenin: x,y

PEZ6: LCLC-97TM1