

Cellules HCC44 | 305456

Informations générales

Description

La lignée cellulaire HCC44 est un modèle de cancer du poumon à cellules non petites (CPNPNP) connu pour porter une mutation du gène KRAS, qui joue un rôle important dans la progression du cancer et la résistance au traitement. Dans une étude explorant les caractéristiques du CPNPNP induit par KRAS, il a été établi que la viabilité de la lignée HCC44 dépendait de l'enzyme malique 1 (ME1), ce qui suggère que la mutation KRAS dans cette lignée cellulaire renforce l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme de la glutamine et l'équilibre redox. Le rôle de la ME1 dans la production de NADPH contribue à contrer le stress oxydatif, ce qui est particulièrement vital pour les cellules cancéreuses porteuses de la mutation KRAS qui connaissent une prolifération rapide.

Des recherches plus approfondies sur des composés naturels tels que les analogues de la chromomycine ont montré un intérêt thérapeutique potentiel pour HCC44. La chromomycine SA2 et des molécules apparentées ont été évaluées pour leurs effets cytotoxiques sur HCC44, montrant une puissance réduite par rapport à d'autres analogues en raison de modifications des chaînes latérales qui affectent leur interaction avec l'ADN. De plus, la réponse de la lignée cellulaire à la radiothérapie a été étudiée, indiquant que la perturbation du métabolisme de la glutamine pourrait sensibiliser HCC44 aux rayonnements, permettant ainsi de surmonter certains aspects de la radiorésistance conférée par les mutations KRAS.

Organism

Humain

Tissue

Poumon

Disease

Adénocarcinome

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Centre de cancérologie Hamon 44

Caractéristiques

Age

54 ans

Gender

Femme

Ethnicity

Européen

Morphology

De type épithélial

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires

Cellules HCC44 | 305456

Citation HCC44 (référence Cytion 305456)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2060

Données biomoléculaires

Mutational profile Mutation : KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozygote ; Mutation : TERT, c.1-124C>A (c.228C>A) ; Mutation : TP53, p.Ser94Ter (c.281C>G), homozygote ; Mutation : TP53, p.Arg175Leu (c.524G>T), homozygote

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** 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.**Seeding density** 1 à 3 x 10⁴ cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** 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.

Cellules HCC44 | 305456

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

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.

Storage Conditions

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.

Cellules HCC44 | 305456

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

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.