Product sheet

Cellules HCC366 | 302155

Informations générales

Description	La lignée cellulaire HCC366 est une lignée de carcinome adénosquameux pulmonaire humain issue d'un épanchement pleural malin chez une patiente européenne âgée de 80 ans, au Hamon Cancer Center, au sein du UT Southwestern Medical Center. Le carcinome adénosquameux est un sous-type histologique mixte rare de cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC) combinant les caractéristiques de l'adénocarcinome et du carcinome épidermoïde. La lignée HCC366 fait partie des panels Cancer Dependency Map (DepMap), CCLE, COSMIC et du MD Anderson Cell Lines Project. Cette lignée présente une mutation homozygote TP53 p.Tyr220Cys (une mutation structurelle du domaine de liaison à l'ADN) et une mutation hétérozygote ATM p.Pro534Ala. Elle ne porte pas de mutations motrices KRAS, EGFR ou STK11 et présente une stabilité microsatellitaire (MSS). Son temps de doublement est d'environ 60 à 70 heures. La lignée HCC366 est utile dans la recherche sur le CPNPC, en particulier dans les études portant sur la biologie du carcinome adénosquameux du poumon, qui reste peu étudiée par rapport aux sous-types d'adénocarcinome pur ou de carcinome épidermoïde. Ses principales applications comprennent : les études sur les mutations à gain de fonction du gène TP53 ; la réponse aux dommages de l'ADN médiée par l'ATM ; les tests de sensibilité et de résistance à la chimiothérapie (cisplatine, paclitaxel, gemcitabine) ; l'évaluation d'agents ciblés ; le profilage de la sensibilité aux médicaments dans les cadres DepMap et CCLE ; la découverte de biomarqueurs pour le CPNPC à histologie mixte ; la génomique comparative ; et le profilage protéomique/transcriptomique. La lignée HCC366 a également contribué à des études sur la biologie cellulaire du cancer du poumon, notamment les mécanismes de prolifération, de migration et d'invasion liés aux maladies pleurales malignes.
Organism	Humain
Tissue	Poumon
Disease	Cancer du poumon non à petites cellules
Metastatic site	Épanchement pleural malin (site de prélèvement)
Applications	Recherche sur le CPNPC ; biologie du carcinome adénosquameux du poumon ; études sur le gain de fonction de la mutation TP53 p.Tyr220Cys ; réponse de l'ATM aux dommages de l'ADN ; sensibilité à la chimiothérapie (cisplatine, paclitaxel, gemcitabine) ; profilage de la sensibilité aux médicaments par DepMap/CCLE ; découverte de biomarqueurs ; génomique comparative du CPNPC ; biologie des maladies pleurales malignes
Synonyms	HCC-366, HCC0366, Centre du cancer Hamon 366

Caractéristiques

Age	80 ans
Gender	Femme

Cellules HCC366 | 302155

Ethnicity	Européen
Morphology	De type épithélial
Cell type	Cellules épithéliales
Growth properties	Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Citation	HCC366 (numéro de catalogue Cytion 302155)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2059
GMO Status	Sans modification génétique ; lignée cellulaire de CPNPC de type sauvage présentant des mutations somatiques endogènes (TP53 p.Tyr220Cys homozygote ; ATM p.Pro534Ala hétérozygote)

Données biomoléculaires

MSI-status	MSS
Mutational profile	TP53 p.Tyr220Cys (c.659A>G) homozygote ; ATM p.Pro534Ala (c.1600C>G) hétérozygote

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 inactivé à la chaleur
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	environ 60 à 70 heures

Cellules HCC366 | 302155

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.
Split ratio	1 à 5
Seeding density	1 à 3 × 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à raison de 5 × 10^4 cellules/cm^2 et laisser au moins 24 heures pour l'adhérence avant le premier changement de milieu.
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 HCC366 | 302155

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%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

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.

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.

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.