

Cellules HCC44 | 305456

Renseignements généraux

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 le cadre d'une étude visant à explorer les caractéristiques du CPNPC induit par KRAS, on a constaté que la viabilité de la lignée HCC44 dépendait de l'enzyme malique 1 (ME1), ce qui suggère que la mutation KRAS présente dans cette lignée cellulaire augmente 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 mis en évidence un intérêt thérapeutique potentiel pour la lignée HCC44. La chromomycine SA2 et des molécules apparentées ont été évaluées quant à leurs effets cytotoxiques sur la lignée HCC44, révélant 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, ce qui indique que la perturbation du métabolisme de la glutamine pourrait sensibiliser la lignée HCC44 aux rayons, permettant ainsi de surmonter certains aspects de la radiorésistance conférée par les mutations du gène 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

Adepté

Données réglementaires

Cellules HCC44 | 305456

Citation HCC44 (numéro de catalogue 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, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**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.**Seeding density** de 1 à 3×10^4 cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**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.

Cellules HCC44 | 305456

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150°C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien 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 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.

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.

Cellules HCC44 | 305456

Contrôle de la 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 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.