

Cellules HCC366 | 302155

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire HCC366 est une lignée de carcinome adénoquameux pulmonaire humain établie à partir de l'épanchement pleural malin d'une patiente européenne âgée de 80 ans au Hamon Cancer Center, du Centre médical UT Southwestern. Le carcinome adénoquameux est un sous-type histologique mixte rare de cancer du poumon à cellules non petites (CPNPC) combinant les caractéristiques de l'adénocarcinome et du carcinome épidermoïde. La lignée HCC366 fait partie des panels de la Cancer Dependency Map (DepMap), du CCLE, des lignées cellulaires COSMIC et du projet de lignées cellulaires du MD Anderson. Cette lignée porte 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 cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC), en particulier dans les études sur la biologie du carcinome adénoquameux du poumon, qui reste peu étudiée par rapport aux sous-types d'adénocarcinome pur ou de carcinome épidermoïde. Les principales applications comprennent : les études sur les mutations à gain de fonction du gène TP53; la réponse aux dommages à 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 et 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 à cellules non petites

Metastatic site

Épanchement pleural malin (site de prélèvement)

Applications

Recherche sur le cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC); biologie du carcinome adénoquameux du poumon; études sur le gain de fonction du gène TP53 p.Tyr220Cys; réponse de l'ATM aux dommages à 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 de cancérologie 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
CellSaurusAccession	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, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de sérum fœtal bovin (FBS) inactivé par la chaleur
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	environ 60 à 70 heures

Cellules HCC366 | 302155

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
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemer 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 (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 HCC366 | 302155

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 HCC366 | 302155

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.