

## Mesure de la croissance de sphéroïdes

### Introduction

Un modèle cellulaire en 3D, tels que les sphéroïdes, permet d'offrir un niveau de complexité intermédiaire entre la culture en monocouche et l'utilisation de modèles animaux, en reproduisant *in vitro* l'organisation d'une micro-tumeur. Il a été montré que ce modèle est plus prédictif de la réponse au traitement que les modèles de culture en monocouche.

Ainsi, PCBiS propose un essai miniaturisé en microplaque permettant de réaliser des cinétiques de la prolifération cellulaire dans des conditions de culture classiques sous atmosphère contrôlée en quantifiant l'aire des sphéroïdes grâce à l'utilisation de l'Incucyte S3 (Essen Bioscience /Sartorius).

### Protocole – sphéroïde unique sans traitement

Cellules utilisées : Tumeurs glioneuronales malignes

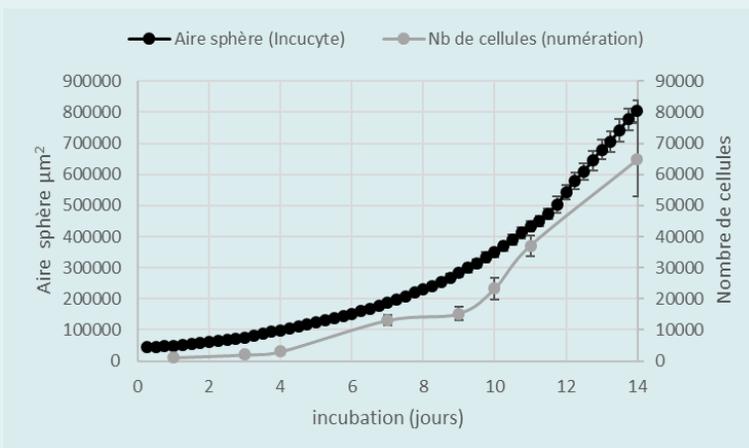
#### 1. Conditions expérimentales

Format: 96 puits

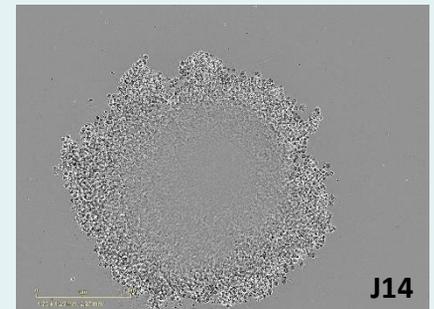
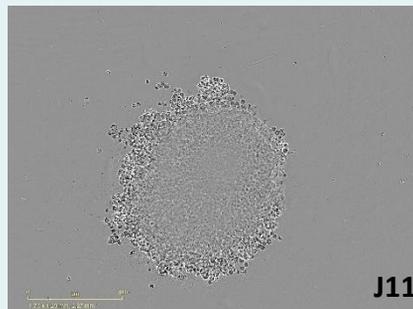
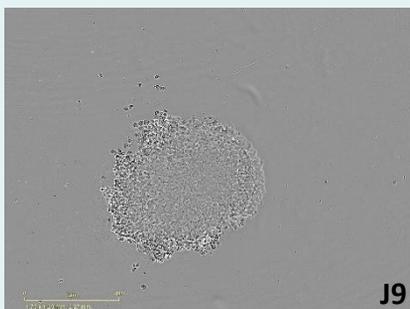
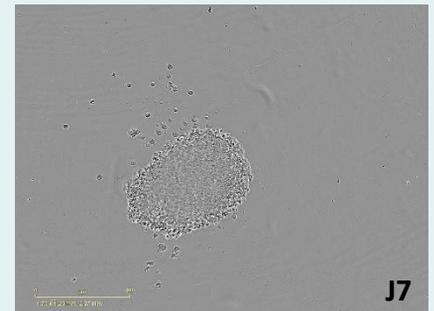
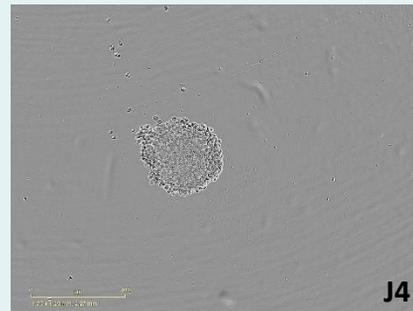
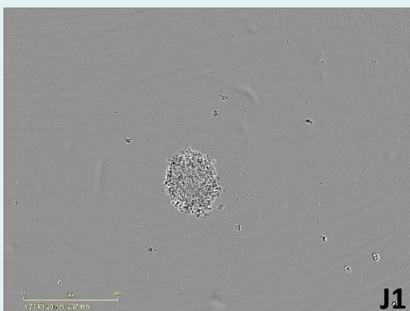
Incubation : 14 jours à 37°C; 5% CO<sub>2</sub>

#### 2. Analyse

Incucyte S3 – Aire sphère (μm<sup>2</sup>)



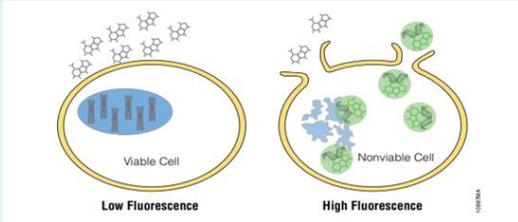
	tps doublement (jours)
Aire sphère (Incucyte)	3,4 +/- 0,3 jours
Numération	2,6 +/- 0,3 jours



## Mesure de la croissance de sphéroïdes

### Principe

Le test CellTox-Green (PROMEGA) permet de quantifier la viabilité des sphéroïdes au cours du temps dans des conditions de culture classiques sous atmosphère contrôlée grâce à l'utilisation de l'Incucyte S3 (Essen Bioscience /Sartorius).



Basée sur le principe de la perméabilité membranaire, la cyanine, molécule fluorescente constituant le kit, colore uniquement l'ADN des cellules non viables. Le signal fluorescent (ex 512 nm / em 532 nm) produit par la cyanine est proportionnel à la cytotoxicité cellulaire.

[www.promega.com](http://www.promega.com)

### Protocole - sphéroïde unique avec traitement

Cellules utilisées : Tumeurs glioneuronales malignes

#### 1. Conditions expérimentales

Format: 96 puits

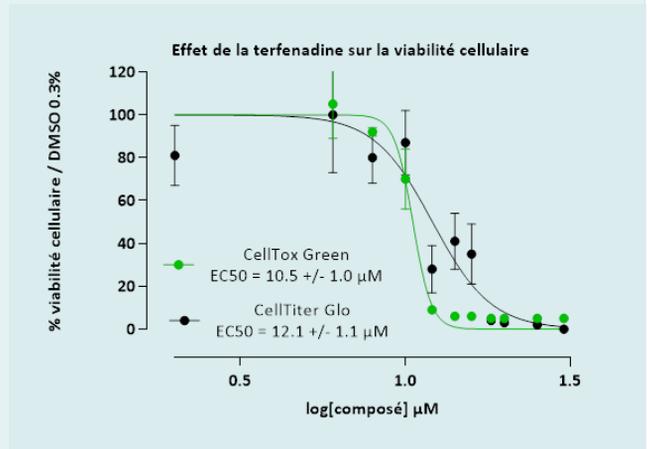
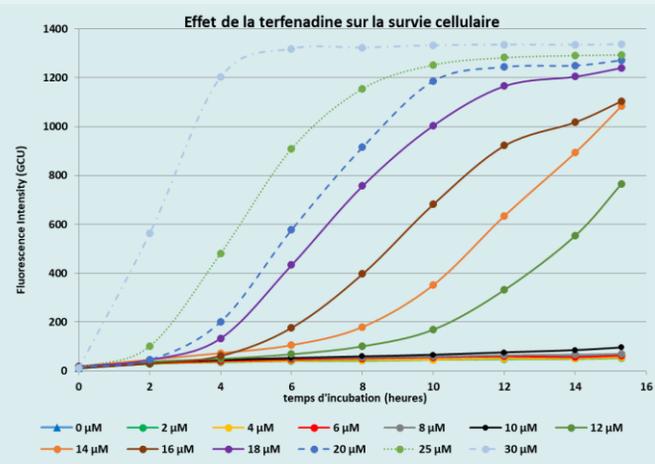
Témoin positif : Terfenadine

Viabilité cellulaire : CellTox-Green (Promega)

Incubation : 15 heures à 37°C; 5% CO<sub>2</sub>

#### 2. Analyse

Incucyte S3 – Fluorescence



Zeniou et al. PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0134793  
August 13, 2015 EC50 = 8 +/- 1 μM

