

Evaluation des effets cytotoxiques d'un composé

Introduction

L'étude de la cytotoxicité d'un composé ayant une activité modulatrice sur la réponse des cellules est essentielle.

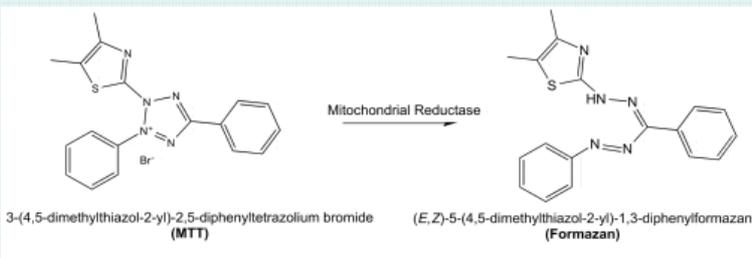
Elle permet de vérifier que la molécule active n'induit aucune modification de la viabilité cellulaire par rapport aux cellules non traitées.

Plusieurs lignées cellulaires sont disponibles à PCBiS pour l'étude de la cytotoxicité

Principe

Plusieurs tests de viabilité cellulaire sont proposés par PCBiS

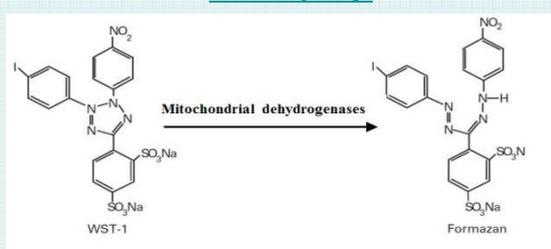
1. Test MTT



Le test est basé sur le clivage par la succinate deshydrogénase mitochondriale d'un sel de tétrazolium de couleur jaune en cristaux de formazan de couleur bleue.

La réaction est quantifiée par mesure de l'absorbance à 560 nm des cristaux solubilisés dans un solvant organique qui est proportionnelle au nombre de cellules vivantes.

2. Test WST-1 www.ozyme.fr

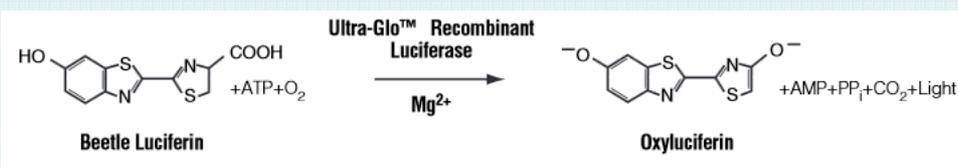


Le test est basé sur le clivage par la succinate deshydrogénase mitochondriale d'un sel de tétrazolium de couleur rouge en cristaux de formazan de couleur jaune.

La réaction est quantifiée par mesure de l'absorbance à 450 nm des cristaux solubles dans le milieu de culture qui est proportionnelle au nombre de cellules vivantes.

A la différence du MTT, le WST-1 est un sel de tétrazolium capable d'être clivé par les cellules vivantes en formazan soluble, il n'y a donc pas d'étape de solubilisation ultérieure dans un solvant organique.

3. Test Cell Titer Glo Luminescent (PROMEGA) www.promega.com



Le test est basé sur la mono oxygénation de la luciférine en oxyluciférine par la luciférase en présence de Mg²⁺ et d'ATP. La réaction est quantifiée par mesure du signal luminescent qui est proportionnel à l'ATP présent dans le milieu et donc à l'activité métabolique des cellules.

Evaluation des effets cytotoxiques d'un composé

Principe (suite)

4. IncuCyte (ESSEN BIOSCIENCE) www.essenbioscience.com



Cet appareil permet de réaliser des cinétiques de la prolifération cellulaire dans des conditions de culture classiques sous atmosphère contrôlée en quantifiant la confluence des cellules.

Protocole

Format: 96 puits

Ensemencement des cellules 24H avant traitement

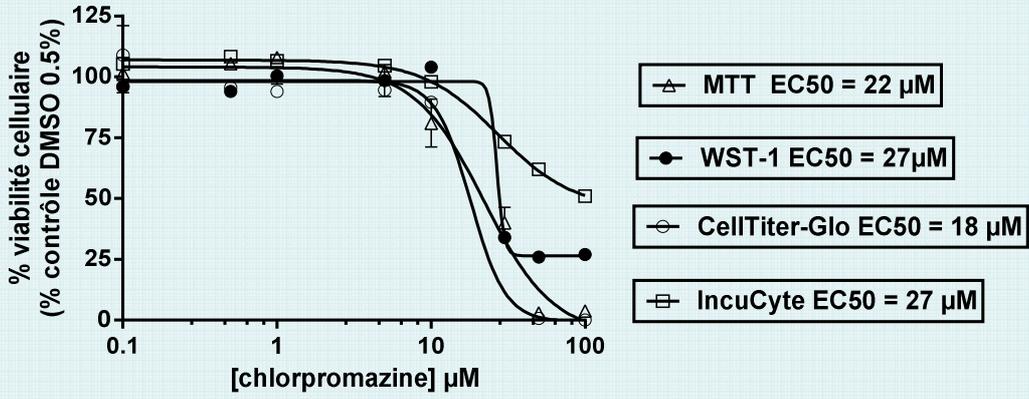
Molécule de référence : Chlorpromazine

Incubation 48H à 37°C (possibilité d'adapter le temps d'incubation au modèle biologique)

Réalisation du test de viabilité cellulaire

| | MTT | WST-1 | Cell Titer Glo | IncuCyte |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| Incubation | 0,5 à 4 heures | 0,5 à 4 heures | 10 min | En continu |
| Paramètre | MTS réductase | MTS réductase | ATP | Morphologie cellulaire |
| Sensibilité | + | ++ | +++ | +++ |
| Détection | Colorimétrie / 1 point | Colorimétrie / 1 point | Luminescence / 1 point | Confluence cellulaire / cinétique |

Evaluation de la cytotoxicité de la Chlorpromazine sur HepG2 (ATCC HB-8065)



IncuCyte (ESSEN BIOSCIENCE)

