

Cellules GP2D | 305778

Informations générales

Description

GP2d est une lignée cellulaire d'adénocarcinome colorectal humain dérivée d'une tumeur du côlon peu différenciée. Elle a été établie parallèlement à une lignée sœur, GPSd, à partir du même échantillon d'adénocarcinome. Si les deux lignées partagent des altérations génétiques similaires, conformes aux schémas couramment observés dans le cancer colorectal, notamment une duplication inversée impliquant le chromosome 10q11-q21, elles diffèrent nettement par leurs caractéristiques phénotypiques et leur comportement cellulaire. Il est à noter qu'aucune translocation impliquant le proto-oncogène *ret* – cartographié dans cette région chromosomique – n'a été détectée par analyse Southern blot, ce qui suggère que la duplication n'a pas perturbé ce gène directement.

Les cellules GP2d présentent un schéma de croissance cohésif et diffusant à partir des bords des microcolonies pour former une monocouche épithéliale confluyente. Cette morphologie s'accompagne de schémas d'expression distincts de molécules d'adhésion telles que l'intégrine $\alpha 2$, la desmoplakine et la E-cadhérine, qui jouent toutes un rôle dans le maintien de l'intégrité épithéliale. Sur le plan fonctionnel, les cellules GP2d réagissent fortement au facteur de croissance épidermique (EGF), au facteur de croissance transformant alpha (TGF α) et à l'insuline, comme le démontre l'augmentation de la prolifération cellulaire en réponse à ces ligands. Il est intéressant de noter que les cellules GP2d et GPSd expriment un nombre comparable de récepteurs de l'EGF, mais diffèrent dans leur expression des ligands de ces récepteurs. Les cellules GP2d possèdent une quantité abondante d'ARNm de l'amphiréguline, tandis que les cellules GPSd expriment principalement l'ARNm du TGF α avec peu ou pas d'amphiréguline, ce qui correspond aux réponses biologiques différentes observées.

Ces caractéristiques font de GP2d un modèle précieux pour l'étude de la régulation de la signalisation des facteurs de croissance et de l'adhésion cellulaire dans le cancer colorectal. Sa réactivité aux stimuli de la voie de l'EGF et sa morphologie épithéliale distincte soulignent son utilité dans l'étude de la différenciation et de la prolifération des cellules tumorales. De plus, son origine commune avec GPSd permet des études comparatives de la variation clonale au sein des tumeurs, en particulier dans le contexte de la dynamique ligand-récepteur et des réponses de transition épithélio-mésenchymateuse (EMT).

Organism

Humain

Tissue

Colon

Disease

Adénocarcinome

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Caractéristiques

Age

71 ans

Gender

Femme

Ethnicity

Caucasien

Cellules GP2D | 305778

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires

Citation GP2D (référence Cytion 305778)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2450

Données biomoléculaires

Mutational profile Mutation : KRAS, simple, p.Gly12Asp (c.35G>A), hétérozygote, TP53

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**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.**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 GP2D | 305778

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% CO_2 , atmosphère humidifiée.

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.

Cellules GP2D | 305778

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.