

GP2D-celler | 305778

Generel information

Description

GP2d er en human cellelinje fra et kolorektalt adenokarcinom, der stammer fra en dårligt differentieret tyktarmstumor. Den blev etableret sideløbende med en søsterlinje, GPSd, fra samme adenokarcinomprøve. Selvom begge linjer deler lignende genetiske ændringer, der stemmer overens med de almindelige mønstre, der ses ved kolorektal cancer – herunder en inverteret duplikation på kromosom 10q11-q21 – adskiller de sig markant i deres fænotypiske egenskaber og cellulære adfærd. Det er bemærkelsesværdigt, at der ikke blev påvist nogen translokationer involverende ret-proto-onkogenet – kortlagt til denne kromosomregion – ved Southern-blot-analyse, hvilket tyder på, at duplikationen ikke forstyrrede dette gen direkte.

GP2d-celler udviser et sammenhængende, spredende vækstmønster fra kanterne af mikrokolonier for at danne et konfluent epitelmonolag. Denne morfologi ledsages af tydelige ekspressionsmønstre for adhæsionsmolekyler såsom $\alpha 2$ -integrin, desmoplakin og E-cadherin, som alle spiller en rolle i opretholdelsen af epitelintegriteten. Funktionelt reagerer GP2d-celler kraftigt på epidermal vækstfaktor (EGF), transformerende vækstfaktor-alfa (TGF α) og insulin, hvilket demonstreres ved øget celleproliferation som reaktion på disse ligander. Interessant nok udtrykker både GP2d og GPSd sammenlignelige antal EGF-receptorer, men adskiller sig i deres ekspression af EGF-receptorligander. GP2d-celler har rigeligt med amphiregulin-mRNA, mens GPSd overvejende udtrykker TGF α -mRNA med lidt eller ingen amphiregulin, hvilket korrelerer med de observerede forskellige biologiske responser.

Disse egenskaber gør GP2d til en værdifuld model til at studere reguleringen af vækstfaktorsignaler og celleadhæsion i kolorektal cancer. Dens reaktionsevne over for stimuli fra EGF-signalvejen og den særlige epitel-morfologi understreger dens nytteværdi i undersøgelsen af tumorcelledifferentiering og -proliferation. Desuden muliggør den fælles oprindelse med GPSd sammenlignende studier af klonal variation inden for tumorer, især i sammenhæng med ligand-receptordynamik og epitel-til-mesenkym-overgangsreaktioner (EMT).

Organism

Menneske

Tissue

Tarm

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Karakteristika

Age

71 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Growth properties

Vedhæftende

GP2D-celler | 305778

Regulatoriske data

Citation	GP2D (Cytion-varenummer 305778)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2450

Biomolekylære data

Mutational profile	Mutation: KRAS, enkel, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozygot, TP53
--------------------	--

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

GP2D-celler | 305778

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

GP2D-celler | 305778

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.