

GP2D-Zellen | 305778

Allgemeine Informationen

Description

GP2d ist eine menschliche Zelllinie aus einem kolorektalen Adenokarzinom, die aus einem schlecht differenzierten Kolontumor gewonnen wurde. Sie wurde zusammen mit einer Schwesterlinie, GPSd, aus derselben Adenokarzinom-Probe etabliert. Obwohl beide Linien ähnliche genetische Veränderungen aufweisen, die mit den bei kolorektalem Krebs häufig beobachteten Mustern übereinstimmen – darunter eine invertierte Duplikation im Bereich von Chromosom 10q11–q21 –, unterscheiden sie sich deutlich in ihren phänotypischen Merkmalen und ihrem Zellverhalten. Bemerkenswerterweise wurden mittels Southern-Blot-Analyse keine Translokationen festgestellt, an denen das in dieser Chromosomenregion kartierte ret-Protonkogen beteiligt war, was darauf hindeutet, dass die Duplikation dieses Gen nicht direkt gestört hat.

GP2d-Zellen zeigen ein kohäsives, sich ausbreitendes Wachstumsmuster von den Rändern der Mikrokolonien aus, um eine konfluente Epithelmonoschicht zu bilden. Diese Morphologie geht mit charakteristischen Expressionsmustern von Adhäsionsmolekülen wie α 2-Integrin, Desmoplakin und E-Cadherin einher, die alle eine Rolle bei der Aufrechterhaltung der Epithelintegrität spielen. Funktional reagieren GP2d-Zellen stark auf epidermalen Wachstumsfaktor (EGF), transformierenden Wachstumsfaktor-alpha (TGF α) und Insulin, was durch eine erhöhte Zellproliferation als Reaktion auf diese Liganden belegt wird. Interessanterweise exprimieren sowohl GP2d- als auch GPSd-Zellen eine vergleichbare Anzahl an EGF-Rezeptoren, unterscheiden sich jedoch in der Expression von EGF-Rezeptorliganden. GP2d-Zellen weisen reichlich Amphiregulin-mRNA auf, während GPSd-Zellen vorwiegend TGF α -mRNA exprimieren und kaum bis gar kein Amphiregulin, was mit den beobachteten unterschiedlichen biologischen Reaktionen korreliert.

Diese Eigenschaften machen GP2d zu einem wertvollen Modell für die Untersuchung der Regulation der Wachstumsfaktor-Signalübertragung und der Zelladhäsion bei Darmkrebs. Seine Reaktionsfähigkeit auf Stimuli des EGF-Signalwegs und seine ausgeprägte Epithelmorphologie unterstreichen seine Nützlichkeit bei der Erforschung der Differenzierung und Proliferation von Tumorzellen. Darüber hinaus ermöglicht die gemeinsame Herkunft mit GPSd vergleichende Studien zur klonalen Variation innerhalb von Tumoren, insbesondere im Zusammenhang mit der Dynamik von Liganden und Rezeptoren sowie den Reaktionen der epithelial-mesenchymalen Transition (EMT).

Organism	Menschen
Tissue	Doppelpunkt
Disease	Adenokarzinom
Synonyms	Gp2d, Gp2D, GP2D

Merkmale

Age	71 Jahre
Gender	Weiblich
Ethnicity	Kaukasisch

GP2D-Zellen | 305778

Growth properties Adhärenz

Regulatorische Daten

Citation GP2D (Cytion-Katalognummer 305778)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2450

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenz Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

GP2D-Zellen | 305778

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Eine Lagerung bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

GP2D-Zellen | 305778

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.