

GP2D-rakud | 305778

Üldine teave

Description

GP2d on inimese kolorektaalse adenokartsinoomi rakuliin, mis on saadud halvasti diferentseerunud käärsoolekasvajast. See loodi koos sama adenokartsinoomi proovist pärineva sõsarliiniga GPSd. Kuigi mõlemal liinil on sarnased geneetilised muutused, mis vastavad kolorektaalse vähi puhul tavaliselt esinevatele mustritele, sealhulgas kromosoomi 10q11–q21 pööratud duplikatsioon, erinevad need märkimisväärselt oma fenotüübiliste omaduste ja rakkude käitumise poolest. Tähelepanuväärne on, et Southern-blot-analüüsiga ei avastatud ühtegi translokatsiooni, mis hõlmaks ret-protoonkogeeni – mis on kaardistatud sellesse kromosoomipiirkonda –, mis viitab sellele, et duplikatsioon ei häirinud seda geeni otseselt.

GP2d-rakud näitavad ühtset, laienevat kasvumustrit mikrokolonite servadest, moodustades konfluentse epiteelmonokihhi. Seda morfoloogiat saadab adheesioonimolekulide, nagu $\alpha 2$ -integrin, desmoplakiin ja E-kadheriin, selge ekspressioonimuster, millest kõik mängivad rolli epiteeli terviklikkuse säilitamisel. Funktsionaalselt reageerivad GP2d-rakud tugevalt epidermaalse kasvufaktori (EGF), transformatiivse kasvufaktori alfa (TGF α) ja insuliinile, mida näitab rakkude proliferatsiooni suurenemine vastusena nendele ligandidele. Huvitaval kombel ekspresseerivad nii GP2d kui ka GPSd võrreldavat arvu EGF-retseptoreid, kuid erinevad EGF-retseptori ligandide ekspressioonis. GP2d-rakkudes on rohkesti amfireguliini mRNA-d, samas kui GPSd ekspresseerib peamiselt TGF α mRNA-d, amfireguliini on vähe või üldse mitte, mis korrelatsioonis on täheldatud erinevate bioloogiliste reaktsioonidega.

Need omadused teevad GP2d-st väärtusliku mudeli kasvufaktori signaalimise ja rakkude adhesiivsuse regulatsiooni uurimiseks kolorektaalvähis. Selle reageerimisvõime EGF-signaalitee stiimulitele ja eristuv epiteelomorfoloogia rõhutavad selle kasulikkust kasvajakude diferentseerumise ja proliferatsiooni uurimisel. Lisaks võimaldab ühine päritolu GPSd-ga teha võrdlevaid uuringuid kloonilise variatsiooni kohta kasvajate sees, eriti ligandi-retseptori dünaamika ja epiteelist mesenküümiks ülemineku (EMT) reaktsioonide kontekstis.

Organism

Inimene

Tissue

Colon

Disease

Adenokartsinoom

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Omadused

Age

71 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Kaukaasia

Growth properties

Kinnipeetav

GP2D-rakud | 305778

Regulatiivsed andmed

Citation	GP2D (Cytioni katalooginumber 305778)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2450

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile	Mutatsioon: KRAS, lihtne, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterosügootne, TP53
--------------------	--

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

GP2D-rakud | 305778

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

GP2D-rakud | 305778

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.