

GP2D-solut | 305778

Yleisiä tietoja

Description

GP2d on ihmisen paksusuolen adenokarsinoomasta peräisin oleva solulinja, joka on johdettu huonosti erilaistuneesta paksusuolen kasvaimesta. Se perustettiin yhdessä sisarlinjan GPSd:n kanssa samasta adenokarsinoomanäytteestä. Vaikka molemmilla linjoilla on samankaltaisia geneettisiä muutoksia, jotka ovat tyypillisiä paksusuolisyövälle, mukaan lukien kromosomin 10q11–q21 käänteinen duplikaatio, ne eroavat toisistaan selvästi fenotyyppisten ominaisuuksiensa ja solujen käyttäytymisensä suhteen. Merkittävästi, Southern-blot-analyysissä ei havaittu translokaatioita, joihin olisi liittynyt ret-proto-onkogeeni – joka on kartoitettu tälle kromosomialueelle – mikä viittaa siihen, että duplikaatio ei häirinnyt tätä geeniä suoraan.

GP2d-solut osoittavat yhtenäistä, leviävää kasvumallia mikrokolonioiden reunoilta muodostaen yhtenäisen epiteelimonokerroksen. Tähän morfologiaan liittyy selkeitä ilmentymismalleja adheesiomolekyyleille, kuten $\alpha 2$ -integrinille, desmoplakinille ja E-kadheriinille, jotka kaikki vaikuttavat epiteelin eheyden ylläpitämiseen. Toiminnallisesti GP2d-solut reagoivat voimakkaasti epidermaalaiselle kasvutekijälle (EGF), transformoivalle kasvutekijälle alfa (TGF α) ja insuliinille, mikä näkyy solujen lisääntyneenä proliferaationa vasteena näille ligandeille. Mielenkiintoista on, että sekä GP2d- että GPSd-solut ilmentävät vertailukelpoisen määrän EGF-reseptoreita, mutta eroavat toisistaan EGF-reseptoriligandien ilmentymisessä. GP2d-soluissa on runsaasti amfireguliini-mRNA:ta, kun taas GPSd-solut ilmentävät pääasiassa TGF α -mRNA:ta ja vain vähän tai ei lainkaan amfireguliinia, mikä korreloi havaittujen erilaisten biologisten vasteiden kanssa.

Nämä ominaisuudet tekevät GP2d:stä arvokkaan mallin kasvutekijäsignaalinnin ja solujen adheesion säätelyn tutkimiseen kolorektaalisyövässä. Sen reagoitukyky EGF-reitin ärsykkeisiin ja erottuva epiteelimorfologia korostavat sen hyödyllisyyttä tuumorisolujen erilaistumisen ja proliferaation tutkimuksessa. Lisäksi yhteinen alkuperä GPSd:n kanssa mahdollistaa vertailututkimukset klonalisesta variaatiosta tuumoreissa, erityisesti ligandi-reseptori-dynamiikan ja epiteeli-mesenkymaalisuuntautuneen siirtymän (EMT) vasteiden kontekstissa.

Organism

Ihminen

Tissue

Paksusuoli

Disease

Adenokarsinooma

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Ominaisuudet

Age

71 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

Growth properties

Tarttuva

GP2D-solut | 305778

Säätelytiedot

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

Biomolekyyli tiedot

Mutational profile	Mutaatio: KRAS, yksinkertainen, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterotsygootti, TP53
--------------------	---

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.
Freeze medium	Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

GP2D-solut | 305778

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

GP2D-solut | 305778

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.