Product sheet

GP2D sejtek | 305778

Általános információk

Description	A GP2d egy rosszul differenciált vastagbél-daganatból származó humán kolorektális adenokarcinóma sejtvonal. Ugyanabból az adenokarcinóma-mintából hozták létre egy testvérvonalat, a GPSd-t is. Noha mindkét vonal hasonló genetikai eltéréseket mutat, amelyek összhangban állnak a kolorektális rákban gyakran megfigyelt mintázatokkal – ideértve a 10q11–q21 kromoszómát érintő fordított duplikációt is –, fenotípusos jellemzőik és sejtviselkedésük tekintetében jelentősen eltérnek egymástól. Érdemes megjegyezni, hogy a Southern-blot analízis során nem mutattak ki olyan transzlokációt, amely a kromoszómális régióba térképezett ret proto-onkogént érintette volna, ami arra utal, hogy a duplikáció nem zavarta meg közvetlenül ezt a gént. A GP2d sejtek kohezív, terjedő növekedési mintázatot mutatnak a mikrokolóniák széleitől kiindulva, és konfluens epiteliális monoréteget képeznek. Ezt a morfológiát az adhéziós molekulák – például az α2-integrin, a desmoplakin és az E-kadherin – jellegzetes expressziós mintázata kíséri, amelyek mindegyike szerepet játszik az epiteliális integritás fenntartásában. Funkcionálisan a GP2d sejtek erőteljesen reagálnak az epidermális növekedési faktorra (EGF), a transzformáló növekedési faktor-alfára (TGFα) és az inzulinra, amit a ezekre a ligandumokra adott válaszként megnövekedett sejtproliferáció bizonyít. Érdekes módon mind a GP2d, mind a GPSd hasonló számú EGF-receptort fejez ki, de az EGF-receptor ligandok expressziójában különböznek egymástól. A GP2d sejtekben bőségesen található amphiregulin mRNS, míg a GPSd sejtek túlnyomórészt TGFα mRNS-t fejeznek ki, alig vagy egyáltalán nem tartalmaznak amphiregulint, ami összefüggésben áll a megfigyelt eltérő biológiai válaszokkal. Ezek a jellemzők a GP2d-t értékes modellé teszik a növekedési faktor jelátvitel és a sejtadhézió szabályozásának vizsgálatához a kolorektális rákban. Az EGF-útvonal stimulusaival szembeni reagálóképessége és jellegzetes epiteliális morfológiája kiemeli hasznosságát a tumorsejtek differenciálódásának és proliferációjának vizsgálatában. Továbbá a GPSd-vel közös eredet lehetővé teszi a tumorokon belüli klonális variációk összehasonlító vizsgálatát, különösen a ligand-receptor dinamika és az epiteliális-mesenchimális átalakulás (EMT) reakciók kontextusában.
Organism	Emberi
Tissue	Vastagbél
Disease	Adenokarcinóma
Synonyms	Gp2d, Gp2D, GP2D

Jellemzők

Age	71 év
Gender	Női
Ethnicity	Kaukázusi

GP2D sejtek | 305778

Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	GP2D (Cytion katalógusszám: 305778)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2450

Biomolekuláris adatok

Mutational profile	Mutáció: KRAS, egyszerű, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozigóta, TP53

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

GP2D sejtek | 305778

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.