

Cellule GP2D | 305778

Informazioni generali

Description

GP2d è una linea cellulare di adenocarcinoma coloretale umano derivata da un tumore del colon scarsamente differenziato. È stata ottenuta insieme a una linea gemella, GPSd, dallo stesso campione di adenocarcinoma. Sebbene entrambe le linee presentino alterazioni genetiche simili, coerenti con i modelli comunemente osservati nel cancro coloretale, tra cui una duplicazione invertita che coinvolge il cromosoma 10q11-q21, esse differiscono notevolmente nelle loro caratteristiche fenotipiche e nel comportamento cellulare. In particolare, nessuna traslocazione che coinvolga il proto-oncogene *ret* - mappato in questa regione cromosomica - è stata rilevata dall'analisi Southern blot, suggerendo che la duplicazione non abbia alterato direttamente questo gene.

Le cellule GP2d mostrano un modello di crescita coeso e a diffusione dai bordi delle microcolonie per formare un monostrato epiteliale confluyente. Questa morfologia è accompagnata da modelli di espressione distinti di molecole di adesione quali l'integrina $\alpha 2$, la desmoplakina e l'E-caderina, che svolgono tutte un ruolo nel mantenimento dell'integrità epiteliale. Dal punto di vista funzionale, le cellule GP2d rispondono in modo robusto al fattore di crescita epidermico (EGF), al fattore di crescita trasformante alfa (TGF α) e all'insulina, come dimostrato dall'aumento della proliferazione cellulare in risposta a questi ligandi. È interessante notare che sia le GP2d che le GPSd esprimono un numero comparabile di recettori EGF, ma differiscono nell'espressione dei ligandi dei recettori EGF. Le cellule GP2d presentano abbondante mRNA di anfiregulina, mentre le GPSd esprimono prevalentemente mRNA di TGF α con poca o nessuna anfiregulina, il che è in correlazione con le diverse risposte biologiche osservate.

Queste caratteristiche rendono GP2d un modello prezioso per lo studio della regolazione della segnalazione dei fattori di crescita e dell'adesione cellulare nel cancro del colon-retto. La sua reattività agli stimoli della via dell'EGF e la morfologia epiteliale distinta ne evidenziano l'utilità nello studio della differenziazione e della proliferazione delle cellule tumorali. Inoltre, l'origine condivisa con GPSd consente studi comparativi sulla variazione clonale all'interno dei tumori, in particolare nel contesto delle dinamiche ligando-recettore e delle risposte di transizione epiteliale-mesenchimale (EMT).

Organism Umano

Tissue Colon

Disease Adenocarcinoma

Synonyms Gp2d, Gp2D, GP2D

Caratteristiche

Age 71 anni

Gender Donna

Ethnicity Caucasico

Cellule GP2D | 305778

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation GP2D (codice Cytion 305778)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2450

Dati biomolecolari

Mutational profile Mutazione: KRAS, semplice, p.Gly12Asp (c.35G>A), eterozigote, TP53

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule GP2D | 305778

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Cellule GP2D | 305778

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.