Product sheet

GP2D-cellen | 305778

Algemene informatie

Description	GP2d is een menselijke celijn van colorectaal adenocarcinoom, afkomstig van een slecht gedifferentieerde dikke-darmtumor. Deze celijn werd samen met een zusterlijn, GPSd, opgericht uit hetzelfde adenocarcinoom-monster. Hoewel beide lijnen vergelijkbare genetische veranderingen vertonen die overeenkomen met veelvoorkomende patronen bij colorectale kanker, waaronder een omgekeerde duplicatie op chromosoom 10q11-q21, verschillen ze aanzienlijk in hun fenotypische kenmerken en cellulair gedrag. Opvallend is dat er bij Southern-blotanalyse geen translocaties werden gedetecteerd waarbij het ret-proto-oncogen – dat in dit chromosomale gebied is gekartoteerd – betrokken was, wat suggereert dat de duplicatie dit gen niet direct heeft verstoord. GP2d-cellen vertonen een samenhangend, zich uitbreidend groeipatroon vanaf de randen van microkolonies, waardoor een confluente epitheliale monolaag wordt gevormd. Deze morfologie gaat gepaard met duidelijke expressiepatronen van adhesiemoleculen zoals α2-integrine, desmoplakine en E-cadherine, die allemaal een rol spelen bij het behoud van de epitheliale integriteit. Functioneel reageren GP2d-cellen krachtig op epidermale groeifactor (EGF), transformerende groeifactor-alfa (TGFα) en insuline, zoals blijkt uit de verhoogde celproliferatie als reactie op deze liganden. Interessant is dat zowel GP2d- als GPSd-cellen een vergelijkbaar aantal EGF-receptoren tot expressie brengen, maar verschillen in hun expressie van EGF-receptorliganden. GP2d-cellen hebben overvloedig amphireguline-mRNA, terwijl GPSd-cellen voornamelijk TGFα-mRNA tot expressie brengen met weinig tot geen amphireguline, wat correleert met de waargenomen verschillende biologische reacties. Deze kenmerken maken GP2d tot een waardevol model voor het bestuderen van de regulatie van groeifactorsignalering en celadhesie bij colorectale kanker. De responsiviteit op stimuli van de EGF-route en de kenmerkende epitheliale morfologie onderstrepen het nut ervan bij het onderzoeken van tumorceldifferentiatie en -proliferatie. Bovendien maakt de gedeelde oorsprong met GPSd vergelijkende studies mogelijk van klonale variatie binnen tumoren, met name in de context van ligand-receptordynamica en reacties op de epitheliale-naar-mesenchymale overgang (EMT).
Organism	Mens
Tissue	Kolon
Disease	Adenocarcinoom
Synonyms	Gp2d, Gp2D, GP2D

Kenmerken

Age	71 jaar
Gender	Vrouw
Ethnicity	Kaukasisch

GP2D-cellen | 305778

Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile	Mutatie: KRAS, enkelvoudig, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozygoot, TP53

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells	1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden. 2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is. 3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft. 4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend. 5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig. 6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg. 7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen. 8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.