

GP2D-celler | 305778

Generell informasjon

Description

GP2d er en human cellelinje fra kolorektalt adenokarsinom, avledet fra en dårlig differensiert tykktarmssvulst. Den ble etablert sammen med en søsterlinje, GPSd, fra samme adenokarsinomprøve. Selv om begge linjene har lignende genetiske forandringer som samsvarer med vanlige mønstre ved kolorektal kreft, inkludert en invertert duplikasjon som involverer kromosom 10q11-q21, skiller de seg markant fra hverandre når det gjelder fenotypiske egenskaper og cellulær atferd. Det er verdt å merke seg at ingen translokasjoner som involverer ret-proto-onkogenet – kartlagt til denne kromosomregionen – ble påvist ved Southern blot-analyse, noe som tyder på at duplikasjonen ikke forstyrret dette genet direkte.

GP2d-celler viser et sammenhengende, spredende vekstmønster fra kantene av mikrokolonier for å danne et konfluent epitelmonolag. Denne morfologien ledsages av distinkte uttrykksmønstre for adhesjonsmolekyler som α 2-integrin, desmoplakin og E-kadherin, som alle spiller en rolle i å opprettholde epitelintegriteten. Funksjonelt reagerer GP2d-celler kraftig på epidermal vekstfaktor (EGF), transformerende vekstfaktor-alfa (TGF α) og insulin, som demonstrert ved økt celleproliferasjon som respons på disse ligandene. Interessant nok uttrykker både GP2d og GPSd sammenlignbare antall EGF-reseptorer, men skiller seg fra hverandre i uttrykket av EGF-reseptorligander. GP2d-celler har rikelig med amphiregulin-mRNA, mens GPSd hovedsakelig uttrykker TGF α -mRNA med lite eller ingen amphiregulin, noe som korrelerer med de forskjellige biologiske responsene som er observert.

Disse egenskapene gjør GP2d til en verdifull modell for å studere reguleringen av vekstfaktorsignalering og celleadhesjon i tykktarmskreft. Dens respons på stimuli fra EGF-signalveien og den særegne epitel-morfologien understreker dens nytteverdi i undersøkelsen av tumorcelledifferensiering og -proliferasjon. Videre muliggjør den felles opprinnelsen med GPSd komparative studier av klonal variasjon innenfor tumorer, særlig i sammenheng med dynamikken mellom ligander og reseptorer og responser knyttet til epitel-til-mesenkym-overgang (EMT).

Organism Menneskelig

Tissue Colon

Disease Adenokarsinom

Synonyms Gp2d, Gp2D, GP2D

Kjennetegn

Age 71 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

GP2D-celler | 305778

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation GP2D (Cytion-katalognummer 305778)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2450

Biomolekylære data

Mutational profile Mutasjon: KRAS, enkel, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozygot, TP53

Håndtering

Culture Medium DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

GP2D-celler | 305778

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør celleduspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Lagring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

GP2D-celler | 305778

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.