Product sheet

Celule GP2D | 305778

Informații generale

Description	GP2d este o linie celulară de adenocarcinom colorectal uman derivată dintr-o tumoare de colon slab diferențiată. Aceasta a fost creată împreună cu o linie soră, GPSd, din același specimen de adenocarcinom. Deși ambele linii prezintă alterări genetice similare, în concordanță cu tiparele frecvente observate în cancerul colorectal, inclusiv o duplicare inversată care implică cromozomul 10q11-q21, ele diferă semnificativ în ceea ce privește caracteristicile fenotipice și comportamentul celular. În mod remarcabil, nicio translocație care să implice proto-oncogenul ret – cartografiat în această regiune cromozomială – nu a fost detectată prin analiza Southern blot, sugerând că duplicarea nu a perturbat direct acest gen. Celulele GP2d prezintă un model de creștere coeziv și răspândit de la marginile microcoloniilor pentru a forma un monostrat epitelial confluent. Această morfologie este însoțită de modele distincte de expresie a moleculelor de adeziune, cum ar fi integrina α2, desmoplakina și E-caderina, toate jucând un rol în menținerea integrității epiteliale. Din punct de vedere funcțional, celulele GP2d răspund puternic la factorul de creștere epidermic (EGF), factorul de creștere transformant alfa (TGFα) și insulină, așa cum demonstrează proliferarea celulară crescută ca răspuns la acești liganzi. Interesant este faptul că atât GP2d, cât și GPSd exprimă un număr comparabil de receptori EGF, dar diferă în ceea ce privește expresia liganzilor receptorilor EGF. Celulele GP2d au ARNm abundent de amfiregulină, în timp ce GPSd exprimă predominant ARNm de TGFα, cu puțină sau deloc amfiregulină, ceea ce se corelează cu răspunsurile biologice diferite observate. Aceste caracteristici fac din GP2d un model valoros pentru studierea reglării semnalizării factorilor de creștere și a aderenței celulare în cancerul colorectal. Receptivitatea sa la stimulii căii EGF și morfologia epitelială distinctă evidențiază utilitatea sa în investigarea diferențierii și proliferării celulelor tumorale. Mai mult, originea comună cu GPSd permite studii comparative ale variației clonale în cadrul tumorilor, în special în contextul dinamicii ligand-receptor și al răspunsurilor la tranziția epitelial-mezenchimală (EMT).
Organism	Om
Tissue	Colon
Disease	Adenocarcinom
Synonyms	Gp2d, Gp2D, GP2D

Caracteristici

Age	71 de ani
Gender	Femei
Ethnicity	Caucazian
Growth properties	Aderent

Celule GP2D | 305778

Date de reglementare

Citation	GP2D (număr de catalog Cytion 305778)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2450

Date biomoleculare

Mutational profile	Mutație: KRAS, simplă, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozigotă, TP53

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule GP2D | 305778

Thawing and Culturing Cells	1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului. 2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată. 3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață. 4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere. 5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor. 6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual. 7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă. 8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Celule GP2D | 305778

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât şi metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescenţă. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecţii vizuale zilnice.