

GP2D-celler | 305778

Allmän information

Description

GP2d är en cellinje från humant kolorektalt adenokarcinom som härrör från en dåligt differentierad tjocktarmstumör. Den etablerades tillsammans med en systerlinje, GPSd, från samma adenokarcinomprov. Även om båda linjerna uppvisar liknande genetiska förändringar som överensstämmer med vanliga mönster vid kolorektal cancer, däribland en inverterad duplikation som omfattar kromosom 10q11–q21, skiljer de sig markant åt vad gäller fenotypiska egenskaper och cellulärt beteende. Det är värt att notera att inga translokationer som involverar ret-protoonkogenen – som är kartlagd till denna kromosomregion – detekterades vid Southern blot-analys, vilket tyder på att dupliceringen inte direkt störde detta gen.

GP2d-celler uppvisar ett sammanhängande, spridande tillväxtmönster från kanterna av mikrokolonier för att bilda ett konfluent epitelmonolager. Denna morfologi åtföljs av distinkta uttrycksmönster för adhesionsmolekyler såsom $\alpha 2$ -integrin, desmoplakin och E-kadherin, vilka alla spelar en roll i upprätthållandet av epitelintegriteten. Funktionellt sett reagerar GP2d-celler kraftigt på epidermal tillväxtfaktor (EGF), transformerande tillväxtfaktor-alfa (TGF α) och insulin, vilket demonstreras av ökad cellproliferation som svar på dessa ligander. Intressant nog uttrycker både GP2d och GPSd jämförbara antal EGF-receptorer, men skiljer sig åt i sitt uttryck av EGF-receptorligander. GP2d-celler har rikligt med amphiregulin-mRNA, medan GPSd huvudsakligen uttrycker TGF α -mRNA med lite eller inget amphiregulin, vilket korrelerar med de olika biologiska responser som observerats.

Dessa egenskaper gör GP2d till en värdefull modell för att studera regleringen av tillväxtfaktorsignalering och celladhesion vid kolorektal cancer. Dess respons på stimuli från EGF-signalvägen och distinkta epitel morfologi understryker dess användbarhet vid undersökning av tumörcellsdifferentiering och proliferation. Dessutom möjliggör det gemensamma ursprunget med GPSd jämförande studier av klonal variation inom tumörer, särskilt i sammanhanget av ligand-receptordynamik och epitel-till-mesenkymala övergångsreaktioner (EMT).

Organism

Människan

Tissue

Kolon

Disease

Adenocarcinom

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Egenskaper

Age

71 år

Gender

Kvinna

Ethnicity

Kaukasisk

Growth properties

Följsam

GP2D-celler | 305778

Lagstadgade uppgifter

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

Biomolekylära data

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

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

GP2D-celler | 305778

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Förvaring vid $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

GP2D-celler | 305778

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.