

Celice GP2D | 305778

Splošne informacije

Description

GP2d je človeška celična linija kolorektalnega adenokarcinoma, pridobljena iz slabo diferenciranega tumorja debelega črevesa. Ustanovljena je bila skupaj s sestersko linijo GPSd iz istega vzorca adenokarcinoma. Čeprav imata obe liniji podobne genetske spremembe, ki ustrezajo običajnim vzorcem pri kolorektalnem raku, vključno z inverzno duplikacijo na kromosomu 10q11–q21, se med seboj močno razlikujeta po fenotipskih značilnostih in celičnem obnašanju. Zlasti je pomembno, da s Southern-blot analizo niso bile ugotovljene nobene translokacije, ki bi vključevale protoonkogen ret – kartiran v tem kromosomskem območju –, kar kaže, da podvojitev tega gena ni neposredno motila.

Celice GP2d kažejo koheziven, razširjen vzorec rasti od robov mikrokolonij, da tvorijo konfluentno epitelno monosloj. To morfologijo spremljajo izraziti vzorci izražanja adhezijskih molekul, kot so α 2-integrin, desmoplakin in E-kadherin, ki vse igrajo vlogo pri ohranjanju epitelne integritete. Funkcionalno se celice GP2d močno odzivajo na epidermalni rastni faktor (EGF), transformirajoči rastni faktor alfa (TGF α) in inzulin, kar dokazuje povečana celična proliferacija v odzivu na te ligande. Zanimivo je, da tako GP2d kot GPSd izražata primerljivo število receptorjev EGF, vendar se razlikujeta v izražanju ligandov receptorjev EGF. Celice GP2d imajo obilo mRNA amfiregulina, medtem ko GPSd pretežno izraža mRNA TGF α z malo ali brez amfiregulina, kar je v skladu z opazovanimi različnimi biološkimi odzivi.

Te značilnosti naredijo GP2d za dragocen model za preučevanje regulacije signalizacije rastnih faktorjev in celične adhezije pri kolorektalnem raku. Njegova odzivnost na dražljaje poti EGF in izrazita epiteljska morfologija poudarjata njegovo uporabnost pri preučevanju diferenciacije in proliferacije tumorskih celic. Poleg tega skupni izvor z GPSd omogoča primerjalne študije klonskih variacij znotraj tumorjev, zlasti v kontekstu dinamike ligand-receptor in odzivov epiteljsko-mezenhimalne tranzicije (EMT).

Organism

Človek

Tissue

Debelo črevo

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Značilnosti

Age

71 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Kavkaški

Growth properties

Pripadajoče

Celice GP2D | 305778

Regulativni podatki

Citation	GP2D (kataloška številka Cytion 305778)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2450

Biomolekularni podatki

Mutational profile	Mutacija: KRAS, enostavna, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozigotna, TP53
--------------------	--

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice GP2D | 305778

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Celice GP2D | 305778

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.