GP2D

305778

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

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 α2-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 (TGFα) 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 TGFα 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 epitelijska 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 epitelijsko-mezenhimalne tranzicije (EMT).

Tkivo	Debelo črevo
Bolezen	Adenokarcinom

Sinonimi

- Gp2d
- Gp2D
- GP2D

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Ženska
Lastnosti rasti	Pripadnik
Stopnja biološke varnosti	1

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

GP2D (kataloška številka Cytion 305778)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_2450

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Profil mutacij

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

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

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.

Odtaljevanje in gojenje

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KONTROLA KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

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.

Medij za zamrzovanje	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.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale 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.

Pogoji dostave

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 viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	71 let
Etnična pripadnost	Kavkaški

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Izjava o omejitvi odgovornosti

Naše celice so na voljo izključno za laboratorijske raziskave in vitro in niso namenjene za klinično ali diagnostično uporabo, niti jih ni dovoljeno dajati ljudem ali uporabljati v veterinarske namene. Uporabniki morajo upoštevati vse veljavne smernice in predpise za ravnanje in uporabo teh celic v raziskovalnem okolju.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Potreben je sporazum o prenosu materiala	Yes