

Клетки GP2D | 305778

Обща информация

Description

GP2d е клетъчна линия от човешки колоректален аденокарцином, получена от слабодиференцирана туморна тъкан на дебелото черво. Тя е създадена успоредно с родствената линия GPSd от същия образец на аденокарцином. Въпреки че и двете линии споделят сходни генетични промени, съответстващи на често срещаните модели при колоректалния рак, включително инвертирано дублиране, засягащо хромозома 10q11-q21, те се различават значително по своите фенотипни характеристики и клетъчно поведение. Забележително е, че при Southern blot анализ не бяха открити транслокации, включващи протоонкогена *ret*, картиран в тази хромозомна област, което предполага, че дубликацията не е нарушила директно този ген.

Клетките GP2d проявяват кохезивен, разпространяващ се модел на растеж от краищата на микроколониите, за да образуват конфлуентен епителиален монослой. Тази морфология е придружена от отличителни модели на експресия на адхезионни молекули като $\alpha 2$ -интегрин, десмоплакин и E-кадхерин, всички от които играят роля в поддържането на епителиалната цялост. Функционално GP2d клетките реагират силно на епидермалния растежен фактор (EGF), трансформиращия растежен фактор-алфа (TGF α) и инсулина, както се демонстрира от повишената клетъчна пролиферация в отговор на тези лиганди. Интересно е, че както GP2d, така и GPSd експресират сравними количества EGF рецептори, но се различават в експресията на лигандите на EGF рецепторите. GP2d клетките имат изобилие от амфирегулин мРНК, докато GPSd преобладаващо експресира TGF α мРНК с малко или никакъв амфирегулин, което корелира с наблюдаваните различаващи се биологични реакции.

Тези характеристики правят GP2d ценен модел за изучаване на регулацията на сигнализирането на растежните фактори и клетъчната адхезия при колоректалния рак. Неговата реактивност към стимулите на EGF пътя и отличителната епителна морфология подчертават неговата полезност при изследване на диференциацията и пролиферацията на туморните клетки. Освен това, общият произход с GPSd позволява сравнителни проучвания на клоналната вариация в рамките на туморите, особено в контекста на динамиката на лиганд-рецепторните взаимодействия и реакциите на епително-мезенхимния преход (EMT).

Organism

Човек

Tissue

Дебело черво

Disease

Аденокарцином

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Характеристики

Age

71 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

Клетки GP2D | 305778

Growth properties

Придържащи се

Регулаторни данни

Citation GP2D (каталожен номер на Cytion 305778)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2450

Биомолекулярни данни

Mutational profile Мутация: KRAS, проста, p.Gly12Asp (с.35G>A), хетерозиготна, TP53

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки GP2D | 305778

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки GP2D | 305778

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.