

Buňky GP2D | 305778

Obecné informace

Description

GP2d je lidská buněčná linie kolorektálního adenokarcinomu odvozená z málo diferencovaného nádoru tlustého střeva. Byla vytvořena společně se sesterskou linií GPSd ze stejného vzorku adenokarcinomu. Ačkoli obě linie vykazují podobné genetické změny odpovídající běžným vzorcům pozorovaným u kolorektálního karcinomu, včetně inverzní duplikace zahrnující chromozom 10q11-q21, výrazně se liší ve svých fenotypových charakteristikách a buněčném chování. Je pozoruhodné, že Southernovou analýzou nebyly detekovány žádné translokace zahrnující protoonkogen *ret* – mapovaný do této chromozomální oblasti –, což naznačuje, že duplikace tento gen přímo nenarušila.

Buňky GP2d vykazují soudržný, rozšiřující se růstový vzorec od okrajů mikrokolonií, čímž tvoří konfluentní epiteliální monovrstvu. Tato morfologie je doprovázena odlišnými expresními vzorci adhezních molekul, jako jsou $\alpha 2$ -integrin, desmoplakin a E-kadherin, z nichž všechny hrají roli v udržování epiteliální integrity. Z funkčního hlediska buňky GP2d silně reagují na epidermální růstový faktor (EGF), transformující růstový faktor alfa (TGF α) a inzulín, jak dokazuje zvýšená buněčná proliferace v reakci na tyto ligandy. Zajímavé je, že jak GP2d, tak GPSd exprimují srovnatelné množství receptorů EGF, liší se však v expresi ligandů receptorů EGF. Buňky GP2d mají hojně množství mRNA amfiregulinu, zatímco GPSd exprimuje převážně mRNA TGF α s malým nebo žádným množstvím amfiregulinu, což koreluje s pozorovanými odlišnými biologickými reakcemi.

Tyto vlastnosti činí z GP2d cenný model pro studium regulace signalizace růstových faktorů a buněčné adheze u kolorektálního karcinomu. Jeho citlivost na podněty EGF dráhy a odlišná epiteliální morfologie zdůrazňují jeho užitečnost při zkoumání diferenciaci a proliferaci nádorových buněk. Společný původ s GPSd navíc umožňuje srovnávací studie klonální variability v nádorech, zejména v kontextu dynamiky ligand-receptor a reakcí epiteliálně-mezenchymální transformace (EMT).

Organism	Člověk
Tissue	Střeva
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	Gp2d, Gp2D, GP2D

Charakteristika

Age	71 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Growth properties	Adherentní

Buňky GP2D | 305778

Regulační údaje

Citation	GP2D (katalogové číslo Cytion 305778)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2450

Biomolekulární data

Mutational profile	Mutace: KRAS, jednoduchá, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozygotní, TP53
---------------------------	---

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky GP2D | 305778

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Buňky GP2D | 305778

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.