

Κύτταρα GP2D | 305778

Γενικές πληροφορίες

Description

Η GP2d είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου που προέρχεται από έναν όγκο του παχέος εντέρου με χαμηλό βαθμό διαφοροποίησης. Δημιουργήθηκε παράλληλα με μια αδελφή σειρά, την GPSd, από το ίδιο δείγμα αδενοκαρκινώματος. Ενώ και οι δύο σειρές παρουσιάζουν παρόμοιες γενετικές μεταλλάξεις που συνάδουν με τα συνήθη πρότυπα που παρατηρούνται στον καρκίνο του παχέος εντέρου, συμπεριλαμβανομένης μιας ανεστραμμένης διπλασιασμού που αφορά το χρωμόσωμα 10q11-q21, διαφέρουν σημαντικά ως προς τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και την κυτταρική συμπεριφορά τους. Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν ανιχνεύθηκαν μετατοπίσεις που να εμπλέκουν το πρωτοογκογονίδιο *ret* —το οποίο χαρτογραφείται σε αυτή τη χρωμοσωμική περιοχή— μέσω ανάλυσης Southern blot, γεγονός που υποδηλώνει ότι η διπλασιασμός δεν διατάραξε άμεσα αυτό το γονίδιο.

Τα κύτταρα GP2d εμφανίζουν ένα συνεκτικό, εκτεταμένο πρότυπο ανάπτυξης από τις άκρες των μικροαποικιών για να σχηματίσουν ένα συρρέον επιθηλιακό μονοστρωματικό στρώμα. Αυτή η μορφολογία συνοδεύεται από διακριτά πρότυπα έκφρασης μορίων προσκόλλησης όπως η α2-ιντεγκρίνη, η δεσμοπλακίνη και η E-καδερίνη, τα οποία παίζουν ρόλο στη διατήρηση της επιθηλιακής ακεραιότητας. Λειτουργικά, τα κύτταρα GP2d ανταποκρίνονται έντονα στον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (EGF), στον μετασχηματιστικό αυξητικό παράγοντα-άλφα (TGFα) και στην ινσουλίνη, όπως αποδεικνύεται από τον αυξημένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων σε απόκριση σε αυτούς τους συνδέτες. Είναι ενδιαφέρον ότι τόσο τα GP2d όσο και τα GPSd εκφράζουν συγκρίσιμους αριθμούς υποδοχέων EGF, αλλά διαφέρουν ως προς την έκφραση των προσδετών των υποδοχέων EGF. Τα κύτταρα GP2d διαθέτουν άφθονο mRNA αμφιρεγουλίνης, ενώ τα GPSd εκφράζουν κυρίως mRNA TGFα με ελάχιστη έως καθόλου αμφιρεγουλίνη, κάτι που συσχετίζεται με τις διαφορετικές βιολογικές αποκρίσεις που παρατηρούνται.

Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν το GP2d ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη της ρύθμισης της σηματοδότησης των αυξητικών παραγόντων και της κυτταρικής προσκόλλησης στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Η ανταπόκρισή του στα ερεθίσματα της οδού EGF και η διακριτή επιθηλιακή μορφολογία του υπογραμμίζουν τη χρησιμότητά του στη διερεύνηση της διαφοροποίησης και του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, η κοινή προέλευση με το GPSd επιτρέπει τη διεξαγωγή συγκριτικών μελετών της κλωνικής παραλλαγής εντός των όγκων, ιδίως στο πλαίσιο της δυναμικής των προσδετών-υποδοχέων και των αποκρίσεων της επιθηλιακής προς μεσεγχυματικής μετάβασης (EMT).

Organism Ανθρώπινο

Tissue Κόλον

Disease Αδενοκαρκίνωμα

Synonyms Gp2d, Gp2D, GP2D

Χαρακτηριστικά

Age 71 χρόνια

Gender Γυναίκα

Κύτταρα GP2D | 305778

Ethnicity	Καυκάσιος
------------------	-----------

Growth properties	Προσκολλημένο
--------------------------	---------------

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	GP2D (αριθμός καταλόγου Cytion 305778)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_2450
-----------------------------	-----------

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Μετάλλαξη: KRAS, απλή, p.Gly12Asp (c.35G>A), ετερόζυγη, TP53
---------------------------	--

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
--------------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
---------------------	--

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.
----------------------	---

Κύτταρα GP2D | 305778**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Shipping
Conditions**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Κύτταρα GP2D | 305778

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.