

GP2D ląstelės | 305778

Bendra informacija

Description

GP2d – tai žmogaus storosios žarnos adenokarcinomos ląstelių linija, gauta iš menkai diferencijuoto storosios žarnos naviko. Ji buvo sukurta kartu su gimininga linija GPSd iš to paties adenokarcinomos mėginio. Nors abi linijos turi panašių genetinių pokyčių, atitinkančių tipinius storosios žarnos vėžiui būdingus modelius, įskaitant inversinę duplikaciją 10q11–q21 chromosomos srityje, jos labai skiriasi savo fenotipinėmis savybėmis ir ląstelių elgsena. Pažymėtina, kad Southern blot analize nebuvo aptikta jokių translokacijų, susijusių su ret protoonkogenu, priskirtu šiam chromosomų regionui, o tai rodo, kad duplikacija tiesiogiai nesutrikdė šio geno.

GP2d ląstelės rodo nuoseklų, plintantį augimo modelį nuo mikrokolonijų kraštų, kad susidarytų susiliejančios epitelio monosluoksnis. Šią morfologiją lydi aiškūs adhezijos molekulių, tokių kaip $\alpha 2$ -integrinas, desmoplakinas ir E-kadherinas, ekspresijos modeliai, kurie visi vaidina vaidmenį palaikant epitelio vientisumą. Funkciniu požiūriu GP2d ląstelės stipriai reaguoja į epiderminį augimo faktorių (EGF), transformuojantį augimo faktorių alfa (TGF α) ir insuliną, kaip rodo padidėjęs ląstelių proliferacijos lygis reaguojant į šiuos ligandus. Įdomu tai, kad tiek GP2d, tiek GPSd išreiškia panašų skaičių EGF receptorių, tačiau skiriasi EGF receptorių ligandų išraiška. GP2d ląstelėse gausu amfiregulino mRNR, o GPSd išreiškia daugiausia TGF α mRNR, beveik arba visai neturėdamos amfiregulino, o tai koreliuoja su stebimais skirtingais biologiniais atsakymais.

Šios savybės daro GP2d vertingą modelį augimo faktorių signalizacijos ir ląstelių adhezijos reguliavimo tyrimams storosios žarnos vėžio atveju. Jos reaktyvumas į EGF kelio stimulatorius ir išskirtinė epitelio morfologija pabrėžia jos naudą tiriant naviko ląstelių diferenciaciją ir proliferaciją. Be to, bendra kilmė su GPSd leidžia atlikti lyginamuosius navikų vidinių kloninių variacijų tyrimus, ypač ligandų-receptorių dinamikos ir epitelio-mezenchiminio perėjimo (EMT) reakcijų kontekste.

Organism

Žmogus

Tissue

Storosios žarnos

Disease

Adenokarcinoma

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Charakteristikos

Age

71 metai

Gender

Moteris

Ethnicity

Kaukaziečių

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

GP2D ląstelės | 305778

Citation GP2D (Cytion katalogo numeris 305778)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2450

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile Mutacija: KRAS, paprasta, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozigotinė, TP53

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

GP2D ląstelės | 305778

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

GP2D ląstelės | 305778

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.