

GP2D šūnas | 305778

Vispārīga informācija

Description

GP2d ir cilvēka kolorektālās adenokarcinomas šūnu līnija, kas iegūta no vāji diferencēta resnās zarnas audzēja. Tā tika izveidota kopā ar radniecīgo līniju GPSd no tā paša adenokarcinomas parauga. Lai gan abām līnijām ir līdzīgas ģenētiskas izmaiņas, kas atbilst kolorektālajā vēzī bieži novērotajiem modeļiem, tostarp apgriezta duplikācija 10. hromosomas 10q11–q21 reģionā, tās ievērojami atšķiras pēc fenotipiskajām īpašībām un šūnu uzvedības. Jāatzīmē, ka, izmantojot Southern blot analīzi, netika konstatētas translokācijas, kas ietekmētu ret protoonkogēnu, kas kartēts šajā hromosomu reģionā, kas liecina, ka duplikācija šo gēnu tieši neietekmēja.

GP2d šūnas parāda saliedētu, izplatītu augšanas modeli no mikrokoloniju malām, veidojot saplūstošu epitēlija monoslāni. Šo morfoloģiju pavada izteikti adhezijas molekulu, piemēram, α 2-integrīna, desmoplakīna un E-kadherīna, ekspresijas modeļi, kuriem visiem ir nozīme epitēlija integritātes uzturēšanā. Funkcionāli GP2d šūnas spēcīgi reaģē uz epidermālo augšanas faktoru (EGF), transformējošo augšanas faktoru alfa (TGF α) un insulīnu, ko pierāda palielināta šūnu proliferācija reakcijā uz šiem ligandi. Interesanti, ka gan GP2d, gan GPSd ekspresē salīdzināmu skaitu EGF receptoru, bet atšķiras ar EGF receptoru ligandu ekspresiju. GP2d šūnās ir bagātīgs amfiregulīna mRNA, savukārt GPSd galvenokārt ekspresē TGF α mRNA ar nelielu vai vispār bez amfiregulīna, kas korelē ar novērotajām atšķirīgajām bioloģiskajām reakcijām.

Šīs īpašības padara GP2d par vērtīgu modeli, lai pētītu augšanas faktoru signālu regulāciju un šūnu adheziju kolorektālajā vēzī. Tās reaģētspēja uz EGF ceļa stimuliem un izteikta epitēlija morfoloģija uzsver tās lietderību audzēja šūnu diferenciācijas un proliferācijas izpētē. Turklāt kopīgā izcelsme ar GPSd ļauj veikt salīdzinošus pētījumus par klonālo variāciju audzējos, jo īpaši saistībā ar liganda-receptora dinamiku un epitēlija-mezodermālās pārejas (EMT) reakcijām.

Organism

Cilvēks

Tissue

Resnās zarnas

Disease

Adenokarcinoma

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Raksturojums

Age

71 gads

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

GP2D šūnas | 305778

Citation	GP2D (Cytion kataloga numurs 305778)
----------	--------------------------------------

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

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

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

Biomolekulārie dati

Mutational profile	Mutācija: KRAS, vienkārša, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozigota, TP53
--------------------	---

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
----------------	---

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
-------------	-------------------------------

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

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
--------------	--

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
---------------	---

GP2D šūnas | 305778

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

GP2D šūnas | 305778

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.