

Komórki GP2D | 305778

Informacje ogólne

Description

GP2d to ludzka linia komórkowa gruczolakoraka jelita grubego wyhodowana z niedojrzałego nowotworu okrężnicy. Została ona wyhodowana równolegle z linią siostrzaną GPSd z tej samej próbki gruczolakoraka. Chociaż obie linie wykazują podobne zmiany genetyczne zgodne z typowymi wzorcami obserwowanymi w raku jelita grubego, w tym odwróconą duplikację obejmującą region chromosomu 10q11-q21, różnią się one znacznie pod względem cech fenotypowych i zachowania komórkowego. Co istotne, w analizie metodą Southern blot nie wykryto żadnych translokacji z udziałem protoonkogenu *ret* – mapowanego w tym regionie chromosomowym – co sugeruje, że duplikacja nie zakłóciła bezpośrednio tego genu.

Komórki GP2d wykazują spójny, rozprzestrzeniający się wzorec wzrostu od krawędzi mikrokolonii, tworząc zlewającą się monowarstwę nabłonkową. Morfologii tej towarzyszą wyraźne wzorce ekspresji cząsteczek adhezyjnych, takich jak integryna $\alpha 2$, desmoplakin i E-kadheryna, z których wszystkie odgrywają rolę w utrzymaniu integralności nabłonka. Pod względem funkcjonalnym komórki GP2d silnie reagują na naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), transformujący czynnik wzrostu alfa (TGF α) oraz insulinę, o czym świadczy zwiększona proliferacja komórek w odpowiedzi na te ligandy. Co ciekawe, zarówno komórki GP2d, jak i GPSd wykazują porównywalną liczbę receptorów EGF, ale różnią się pod względem ekspresji ligandów tych receptorów. Komórki GP2d posiadają obfite mRNA amfireguliny, podczas gdy komórki GPSd wykazują głównie ekspresję mRNA TGF α przy niewielkiej ilości lub braku amfireguliny, co koreluje z zaobserwowanymi różnicami w reakcjach biologicznych.

Cechy te sprawiają, że GP2d jest cennym modelem do badania regulacji sygnalizacji czynników wzrostu i adhezji komórkowej w raku jelita grubego. Jego reaktywność na bodźce szlaku EGF oraz charakterystyczna morfologia nabłonkowa podkreślają jego przydatność w badaniu różnicowania i proliferacji komórek nowotworowych. Ponadto wspólne pochodzenie z GPSd pozwala na badania porównawcze zmienności klonalnej w obrębie nowotworów, szczególnie w kontekście dynamiki ligand-receptor oraz reakcji przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT).

Organism Człowiek

Tissue Colon

Disease Gruczolakorak

Synonyms Gp2d, Gp2D, GP2D

Charakterystyka

Age 71 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Kaukaski

Komórki GP2D | 305778

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation GP2D (numer katalogowy Cytion 305778)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2450

Dane biomolekularne

Mutational profile Mutacja: KRAS, prosta, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozygotyczna, TP53

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzuppełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki GP2D | 305778

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.