

Células GP2D | 305778**Informações gerais****Description**

A GP2d é uma linha celular de adenocarcinoma colorretal humano derivada de um tumor do cólon pouco diferenciado. Foi estabelecida em conjunto com uma linha irmã, a GPSd, a partir da mesma amostra de adenocarcinoma. Embora ambas as linhas partilhem alterações genéticas semelhantes, consistentes com padrões comuns observados no cancro colorretal, incluindo uma duplicação invertida envolvendo o cromossoma 10q11-q21, diferem significativamente nas suas características fenotípicas e no comportamento celular. Notavelmente, não foram detetadas translocações envolvendo o proto-oncogene *ret* — mapeado para esta região cromossômica — através da análise Southern blot, sugerindo que a duplicação não perturbou este gene diretamente.

As células GP2d exibem um padrão de crescimento coeso e difuso a partir das bordas das microcolónias para formar uma monocamada epitelial confluenta. Esta morfologia é acompanhada por padrões de expressão distintos de moléculas de adesão, tais como a integrina $\alpha 2$, a desmoplaquina e a E-caderina, todas elas desempenhando papéis na manutenção da integridade epitelial. Funcionalmente, as células GP2d respondem de forma robusta ao fator de crescimento epidérmico (EGF), ao fator de crescimento transformador alfa (TGF α) e à insulina, conforme demonstrado pelo aumento da proliferação celular em resposta a estes ligantes. Curiosamente, tanto as GP2d como as GPSd expressam números comparáveis de recetores de EGF, mas diferem na sua expressão de ligantes dos recetores de EGF. As células GP2d têm mRNA de anfiregulina abundante, enquanto as GPSd expressam predominantemente mRNA de TGF α com pouca ou nenhuma anfiregulina, o que se correlaciona com as diferentes respostas biológicas observadas.

Estas características tornam o GP2d um modelo valioso para estudar a regulação da sinalização dos fatores de crescimento e a adesão celular no cancro colorretal. A sua capacidade de resposta aos estímulos da via do EGF e a morfologia epitelial distinta destacam a sua utilidade na investigação da diferenciação e proliferação das células tumorais. Além disso, a origem comum com o GPSd permite estudos comparativos da variação clonal dentro dos tumores, particularmente no contexto da dinâmica ligando-receptor e das respostas de transição epitelial-mesenquimal (EMT).

Organism

Humano

Tissue

Cólon

Disease

Adenocarcinoma

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Caraterísticas**Age**

71 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Caucasiano

Células GP2D | 305778

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Citation GP2D (número de catálogo da Cytion 305778)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2450

Dados biomoleculares

Mutational profile Mutação: KRAS, simples, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozigótica, TP53

Manuseamento

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

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

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

**Shipping
Conditions**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Células GP2D | 305778

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.