

## Bunky GP2D | 305778

## Všeobecné informácie

## Description

GP2d je ľudská bunková línia kolorektálneho adenokarcinómu odvodená z nízko diferencovaného nádoru hrubého čreva. Bola vytvorená spolu so sesterskou líniou GPSd z rovnakého vzorku adenokarcinómu. Hoci obe línie vykazujú podobné genetické zmeny zodpovedajúce bežným vzorom pozorovaným pri kolorektálnom karcinóme, vrátane invertovanej duplikácie zahŕňajúcej chromozóm 10q11-q21, výrazne sa líšia vo svojich fenotypových charakteristikách a bunkovom správaní. Je pozoruhodné, že analýzou Southern blot neboli zistené žiadne translokácie zahŕňajúce protoonkogén ret – mapovaný do tejto chromozómovej oblasti –, čo naznačuje, že duplikácia tento gén priamo nenarušila.

Bunky GP2d vykazujú kohezívny, rozširujúci sa rastový vzor od okrajov mikrokolónií, čím vytvárajú konfluentnú epiteliálnu monovrstvu. Táto morfológia je sprevádzaná odlišnými expresnými vzormi adhézných molekúl, ako sú  $\alpha 2$ -integrín, desmoplakín a E-kadherín, z ktorých všetky hrajú úlohu v udržiavaní epiteliálnej integrity. Z funkčného hľadiska bunky GP2d silne reagujú na epidermálny rastový faktor (EGF), transformujúci rastový faktor alfa (TGF $\alpha$ ) a inzulín, čo dokazuje zvýšená bunková proliferácia v reakcii na tieto ligandy. Zaujímavé je, že bunky GP2d aj GPSd exprimujú porovnateľný počet receptorov EGF, ale líšia sa v expresii ligandov receptora EGF. Bunky GP2d majú hojné množstvo mRNA amfiregulínu, zatiaľ čo GPSd prevažne exprimuje mRNA TGF $\alpha$  s malým alebo žiadnym množstvom amfiregulínu, čo koreluje s pozorovanými odlišnými biologickými reakciami.

Tieto vlastnosti robia z GP2d cenný model na štúdium regulácie signalizácie rastových faktorov a bunkovej adhézie pri kolorektálnom karcinóme. Jeho citlivosť na stimuly EGF dráhy a odlišná morfológia epitelu zdôrazňujú jeho užitočnosť pri skúmaní diferenciácie a proliferácie nádorových buniek. Okrem toho spoločný pôvod s GPSd umožňuje komparatívne štúdie klonálnej variácie v rámci nádorov, najmä v kontexte dynamiky ligand-receptor a reakcií epitelovo-mezenchýmovej transformácie (EMT).

**Organism**      Ľudské

**Tissue**        Colon

**Disease**        Adenokarcinóm

**Synonyms**      Gp2d, Gp2D, GP2D

## Charakteristika

**Age**            71 rokov

**Gender**        Ženy

**Ethnicity**      Kaukazský

**Growth properties**      Adherent

**Bunky GP2D | 305778****Regulačné údaje**

<b>Citation</b>	GP2D (katalógové číslo Cytion 305778)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_2450

**Biomolekulárne údaje**

<b>Mutational profile</b>	Mutácia: KRAS, jednoduchá, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozygotná, TP53
---------------------------	--

**Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
<b>Freeze medium</b>	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky GP2D | 305778

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

## Bunky GP2D | 305778

### **Sterility**

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.