

Клітини GP2D | 305778

Загальна інформація

Description

GP2d — це лінія клітин аденокарциноми товстої кишки людини, отримана з низькодиференційованої пухлини товстої кишки. Вона була створена разом із сестринською лінією GPSd на основі того самого зразка аденокарциноми. Хоча обидві лінії мають схожі генетичні зміни, що відповідають типовим для колоректального раку ознакам, зокрема інвертовану дуплікацію в ділянці хромосоми 10q11-q21, вони суттєво відрізняються за фенотипними характеристиками та клітинною поведінкою. Примітно, що за допомогою аналізу Саузерн-блот не було виявлено жодних транслокацій, що зачіпають протоонкоген *ret*, локалізований у цій хромосомній ділянці, що свідчить про те, що дуплікація безпосередньо не порушила функцію цього гена.

Клітини GP2d демонструють когезивний, розтікаючийся тип росту від країв мікроколоній, утворюючи злитий епітеліальний моношар. Ця морфологія супроводжується характерними паттернами експресії молекул адгезії, таких як $\alpha 2$ -інтегрин, десмоплакін та E-кадгерин, які відіграють роль у підтримці цілісності епітелію. Функціонально клітини GP2d активно реагують на епідермальний фактор росту (EGF), трансформуючий фактор росту-альфа (TGF α) та інсулін, про що свідчить посилення клітинної проліферації у відповідь на ці ліганди. Цікаво, що як GP2d, так і GPSd експресують порівнянну кількість рецепторів EGF, але відрізняються за експресією лігандів рецепторів EGF. Клітини GP2d мають велику кількість мРНК амфірегуліну, тоді як GPSd переважно експресують мРНК TGF α з незначною кількістю або взагалі без амфірегуліну, що корелює з різними біологічними реакціями, які спостерігаються.

Ці особливості роблять GP2d цінною моделлю для вивчення регуляції сигналізації факторів росту та клітинної адгезії при колоректальному раку. Її чутливість до стимулів шляху EGF та виражена епітеліальна морфологія підкреслюють її корисність у дослідженні диференціації та проліферації пухлинних клітин. Крім того, спільне походження з GPSd дозволяє проводити порівняльні дослідження клональної варіації всередині пухлин, особливо в контексті динаміки ліганд-рецептор та реакцій епітеліально-мезенхімального переходу (EMT).

Organism

Людина

Tissue

Двоєточие

Disease

Аденокарцинома

Synonyms

Gp2d, Gp2D, GP2D

Характеристики

Age

71 рік

Gender

Жінка

Ethnicity

Кавказець

Клітини GP2D | 305778

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation GP2D (номер у каталозі Cytion 305778)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2450

Біомолекулярні дані

Mutational profile Мутація: KRAS, проста, p.Gly12Asp (с.35G>A), гетерозиготна, TP53

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Freeze medium** Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини GP2D | 305778

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

**Storage
Conditions**

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196°C . Зберігання при -80°C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Клітини GP2D | 305778

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.