Product sheet

Células GP2D | 305778

Informações gerais

Description	A GP2d é uma linhagem celular de adenocarcinoma colorretal humano derivada de um tumor de cólon pouco diferenciado. Ela foi estabelecida juntamente com uma linhagem irmã, a GPSd, a partir da mesma amostra de adenocarcinoma. Embora ambas as linhagens compartilhem alterações genéticas semelhantes, consistentes com padrões comuns observados no câncer colorretal — incluindo uma duplicação invertida envolvendo o cromossomo 10q11-q21 —, elas diferem marcadamente em suas características fenotípicas e comportamento celular. Notavelmente, nenhuma translocação envolvendo o proto-oncogene ret — mapeado para essa região cromossômica — foi detectada pela análise de Southern blot, sugerindo que a duplicação não afetou diretamente esse gene. As células GP2d exibem um padrão de crescimento coeso e espalhado a partir das bordas das microcolônias, formando uma monocamada epitelial confluente. Essa morfologia é acompanhada por padrões distintos de expressão de moléculas de adesão, como a integrina α2, a desmoplaquina e a E-caderina, todas as quais desempenham 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 (TGFα) e à insulina, conforme demonstrado pelo aumento da proliferação celular em resposta a esses ligantes. Curiosamente, tanto as células GP2d quanto as GPSd expressam números comparáveis de receptores de EGF, mas diferem na expressão de ligantes desses receptores. As células GP2d apresentam mRNA abundante de anfiregulina, enquanto as GPSd expressam predominantemente mRNA de TGFα, com pouca ou nenhuma anfiregulina, o que se correlaciona com as diferentes respostas biológicas observadas. Essas características tornam a GP2d um modelo valioso para o estudo da regulação da sinalização de fatores de crescimento e da adesão celular no câncer colorretal. Sua capacidade de resposta aos estímulos da via do EGF e sua morfologia epitelial distinta destacam sua utilidade na investigação da diferenciação e proliferação de células tumorais. Além disso, a origem comum com as células GPSd permite estudos comparativos da variação clonal dentro dos tumores, particularmente no contexto da dinâmica ligante-receptor e das respostas à transição epitelial-mesenquimal (EMT).
Organism	Humano
Tissue	Dois pontos
Disease	Adenocarcinoma
Synonyms	Gp2d, Gp2D, GP2D

Características

Age	71 anos
Gender	Mulher
Ethnicity	caucasiano

Células GP2D | 305778

Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

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

Manuseio

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells	1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata. 3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo. 4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo. 5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente. 6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual. 7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes. 8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Shipping Conditions	As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células GP2D | 305778

Sterility	A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.