GP2D

305778

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

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 wzorzec wzrostu od krawędzi mikrokolonii, tworząc zlewającą się monowarstwę nabłonkową. Morfologii tej towarzyszą wyraźne wzorce ekspresji cząsteczek adhezyjnych, takich jak integryna α2, 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 (TGFα) 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 zawierają duże ilości mRNA amfireguliny, podczas gdy komórki GPSd wykazują głównie ekspresję mRNA TGFα 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 odpowiedzi związanych z przejściem nabłonkowo-mezenchymalnym (EMT).

Chusteczka	Colon
Choroba	Gruczolakorak

Synonimy

- Gp2d
- Gp2D
- GP2D

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

IDENTYFIKATORY

Źródło

GP2D (numer katalogowy Cytion 305778)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_2450

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Profil mutacji

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

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

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)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Rozmrażanie i hodowla

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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.

Pożywka do zamrażania	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.

Warunki przechowywania

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.

Warunki wysyłki

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.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	71 lat
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Zastrzeżenie

Nasze komórki są dostarczane wyłącznie do celów badań laboratoryjnych in vitro i nie są przeznaczone do użytku klinicznego lub diagnostycznego, nie mogą być podawane ludziom ani wykorzystywane do celów weterynaryjnych. Użytkownicy muszą przestrzegać wszystkich obowiązujących wytycznych i przepisów dotyczących obchodzenia się z tymi komórkami i korzystania z nich w środowisku badawczym.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes