

769-P Buňky | 300106

Obecné informace

Description

Buněčná linie 769-P je buněčná linie lidského renálního karcinomu (RCC), která byla získána ze vzorku nefrektomie 63leté pacientky s adenokarcinomem ledviny v roce 1975. Je široce využívána ve výzkumu karcinomu ledvin, zejména světlobuněčného karcinomu ledvin (ccRCC), který je nejčastější a nejsmrtelnější formou karcinomu ledvin u dospělých.

Buněčná linie 769-P si zachovává mnoho charakteristik primárního RCC a obsahuje několik mutací, které jsou důležité pro karcinom ledviny. Vykazují ztrátu funkce von Hippel-Lindauova (VHL) tumor supresorového genu, který je u ccRCC důležitým genem pro karcinom ledviny, jenž může aktivovat různé onkogenní dráhy včetně angiogeneze, buněčné proliferace a metabolického přeprogramování.

Buněčná linie 769-P se používá k pochopení molekulárních mechanismů patogeneze karcinomu ledviny, ke zkoumání účinnosti protinádorových léčiv a k výzkumu mechanismů rezistence na léčiva. Tyto buňky jsou zvláště užitečné pro studium odpovědi na inhibitory tyrozinkinázy (TKI), což je třída cílených terapií používaných při léčbě RCC a podtypů RCC.

Buněčná linie karcinomu ledviny 769-P se dále používá ke zkoumání úlohy nádorového mikroprostředí u karcinomu ledviny a ke studiu buněčných procesů, jako je apoptóza, regulace buněčného cyklu a metastatický potenciál. Jejich reaktivita na hypoxické podmínky je vhodná pro výzkum toho, jak se ccRCC přizpůsobuje prostředí s nízkým obsahem kyslíku, které se nachází v solidních nádorech, a jak v něm prosperuje.

Lze shrnout, že buněčná linie 769-P a další buněčné linie RCC jsou nepostradatelnými nástroji ve výzkumu karcinomu ledviny, které umožňují nahlédnout do patogeneze ccRCC, účinnosti léků a mechanismů rezistence.

Organism Člověk

Tissue Ledviny

Disease Karcinom ledviny

Synonyms 769P, 769-p

Charakteristika

Age 63 let

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Morphology Epitelu podobné

769-P Buňky | 300106

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation 769-P (katalogové číslo Cytion 300106)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1050

Biomolekulární data

Tumorigenic Tvoří nádory u imunosuprimovaných křečků a nahých myší

Ploidy status Tato buněčná linie měla vysoký počet tetra-, hexa- a vyššíchploidních buněk (2s populace). Nejčastější buněčná populace (32 % buněk) měla pseudodiploidní karyotyp 46,xx,-3,-18,del(7)(q21.12,q22.3), ?t(3q?18q).

Karyotype Hypodiploidní. Modální číslo = 45. Ve všech buňkách byl přítomen velký submetacentrický chromozom.

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 35 hodin

Subculturing Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:4 až 1:12

769-P Buňky | 300106

Seeding density 3×10^4 buněk/cm² vytvoří během 4 dnů konfluentní monovrstvu.

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 48 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

769-P Buňky | 300106

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 10,14
D16S539: 9,13
D5S818: 12
D7S820: 10,11
TH01: 6,9,3
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 16
D21S11: 28,30
D18S51: 14,17
Penta E: 7,18
Penta D: 12,16
D8S1179: 12,16
FGA: 20,22

769-P Buňky | 300106

Alely HLA

A*: '03:01:01, '24:02:01

B*: '07:02:01

C*: '07:02:01

DRB1*: '15:01:01G

DQA1*: '01:02:01

DQB1*: '06:02:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:03:02