

## 769-P Κύτταρα | 300106

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά 769-P είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά νεφροκυτταρικού καρκινώματος (RCC) που προήλθε από δείγμα νεφρεκτομής μιας 63χρονης ασθενούς με νεφροκυτταρικό αδενοκαρκίνωμα το 1975. Χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα για τον καρκίνο των νεφρικών κυττάρων, ιδίως για το καθαροκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα (ccRCC), το οποίο είναι η πιο συχνή και θανατηφόρος μορφή καρκίνου των νεφρών στους ενήλικες.

Η κυτταρική σειρά 769-P διατηρεί πολλά χαρακτηριστικά του πρωτοπαθούς RCC και φέρει αρκετές μεταλλάξεις που σχετίζονται με το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα. Παρουσιάζουν απώλεια λειτουργίας στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο von Hippel-Lindau (VHL), το οποίο είναι ένα σημαντικό γονίδιο του καρκίνου του νεφρού στο ccRCC που μπορεί να ενεργοποιήσει διάφορες ογκογόνες οδούς, συμπεριλαμβανομένης της αγγειογένεσης, του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και του μεταβολικού επαναπρογραμματισμού.

Η κυτταρική σειρά 769-P χρησιμοποιείται για την κατανόηση των μοριακών μηχανισμών της παθογένειας του καρκίνου του νεφρού, τη διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των αντικαρκινικών φαρμάκων και τη διερεύνηση των μηχανισμών αντίστασης στα φάρμακα. Τα κύτταρα αυτά είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για τη μελέτη της ανταπόκρισης στους αναστολείς κινάσης τυροσίνης (TKIs), οι οποίοι αποτελούν μια κατηγορία στοχευμένων θεραπειών που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του RCC και των υποτύπων του RCC.

Η κυτταρική σειρά καρκίνου του νεφρού 769-P χρησιμοποιείται περαιτέρω για τη διερεύνηση του ρόλου του μικροπεριβάλλοντος του όγκου στον καρκίνο του νεφρού και για τη μελέτη κυτταρικών διεργασιών όπως η απόπτωση, η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και το μεταστατικό δυναμικό. Η ανταπόκρισή τους σε υποξικές συνθήκες τις καθιστά κατάλληλες για την έρευνα σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο ο ccRCC προσαρμόζεται και ευδοκίμει σε περιβάλλοντα χαμηλής περιεκτικότητας σε οξυγόνο που απαντώνται σε συμπαγείς όγκους.

Συνοπτικά, η κυτταρική σειρά 769-P και άλλες κυτταρικές σειρές RCC αποτελούν απαραίτητα εργαλεία στην έρευνα του νεφρικού καρκινώματος, παρέχοντας πληροφορίες για την παθογένεια του ccRCC, την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων και τους μηχανισμούς αντίστασης.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Νεφρός

**Disease** Νεφροκυτταρικό καρκίνωμα

**Synonyms** 769P, 769-p

## Χαρακτηριστικά

**Age** 63 χρόνια

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Καυκάσιος

## 769-P Κύτταρα | 300106

**Morphology** Επιθηλιοειδής**Growth properties** Μονοστρωματική, προσκολλημένη**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** 769-P (αριθμός καταλόγου Cytion 300106)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1050**Βιομοριακά δεδομένα****Tumorigenic** Σχηματίζει όγκους σε ανοσοκατασταλμένα χάμστερ και σε γυμνά ποντίκια**Ploidy status** Αυτή η κυτταρική σειρά είχε υψηλό αριθμό τετρα-, εξα- και υψηλότερα πλουσιόμορφων κυττάρων (πληθυσμοί 2s). Ο πιο κοινός κυτταρικός πληθυσμός (32% των κυττάρων) είχε ψευδοδιπλοειδή καρυότυπο 46,xx,-3,-18,del(7) (q21.12,q22.3), ?t(3q?18q).**Karyotype** Υποδιπλοειδής. Τυπικός αριθμός = 45. Ένα μεγάλο υπομετακεντρικό χρωμόσωμα ήταν παρόν σε όλα τα κύτταρα.**Χειρισμός****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 35 ώρες

**769-P Κύτταρα | 300106**

<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
<b>Seeding density</b>	$3 \times 10^4$ κύτταρα/cm <sup>2</sup> θα οδηγήσουν σε συγχωνευόμενο μονοστρωματικό στρώμα εντός 4 ημερών.
<b>Fluid renewal</b>	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα $5 \times 10^4$ κύτταρα/cm <sup>2</sup> και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 48 ώρες.
<b>Freeze medium</b>	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

## 769-P Κύτταρα | 300106

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**769-P Κύτταρα | 300106****Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

**Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA****Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**HLA αλληλόμορφα**

**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