

769-P rakud | 300106

Üldine teave

Description

Rakuliin 769-P on inimese neerurakukartsinoomi (RCC) rakuliin, mis on saadud 1975. aastal 63-aastase naissoost patsiendi nefrektsiooniproovist, kellel oli neerurakuline adenokartsinoom. Seda kasutatakse laialdaselt neerurakuvähi, eriti selge rakulise neerurakk-kartsinoomi (ccRCC) uurimisel, mis on kõige levinum ja surmavam neeruvähi vorm täiskasvanutel.

Rakuliin 769-P säilitab mitmeid primaarse RCC omadusi ja sisaldab mitmeid mutatsioone, mis on olulised neerurakk-kartsinoomi puhul. Neis esineb von Hippel-Lindau (VHL) tuumori supressorgeeni funktsioonikadu, mis on oluline neeruvähi geen ccRCC puhul, mis võib aktiveerida erinevaid onkogeenseid radu, sealhulgas angiogeneesi, rakkude proliferatsiooni ja ainevahetuse ümberprogrammeerimist.

Rakuliini 769-P kasutatakse neeruvähi patogeneesi molekulaarsete mehhanismide mõistmiseks, vähivastaste ravimite tõhususe uurimiseks ja ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks. Need rakud on eriti kasulikud türosiinkinaasi inhibiitorite (TKI), mis on RCC ja RCC alatüüpide raviks kasutatavate sihtotstarbeliste ravimite klass, vastuse uurimiseks.

Neeruvähi rakuliini 769-P kasutatakse ka selleks, et uurida kasvaja mikrokeskkonna rolli neeruvähis ja uurida selliseid rakuprotsesse nagu apoptoos, rakutsükli regulatsioon ja metastaatiline potentsiaal. Tänu nende tundlikkusele hüpoksiliste tingimuste suhtes on nad sobivad uurimaks, kuidas vähihaigete rakkude rakkude kohanemine ja areng soliidsetes kasvajates leiduvas vähese hapnikusisaldusega keskkonnas on võimalik.

Kokkuvõttes on rakuliin 769-P ja teised RCC rakuliinid asendamatud vahendid neerukartsinoomi uurimisel, andes ülevaate ccRCC patogeneesist, ravimite tõhususest ja resistentsuse mehhanismidest.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Disease Neerurakk-kartsinoom

Synonyms 769P, 769-p

Omadused

Age 63 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

769-P rakud | 300106

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation 769-P (Cytioni katalooginumber 300106)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1050

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic Moodustab kasvjad immunosupresseeritud hamstritel ja alasti hiirtel

Ploidy status Selles rakuliinis oli suur hulk tetra-, hekso- ja kõrgema pluidsusega rakke (2s-populatsioonid). Kõige sagedasem rakupopulatsioon (32% rakkudest) oli pseudodiploidse karüotüübiga 46,xx,-3,-18,del(7)(q21.12,q22.3), ?t(3q?18q).

Karyotype Hüpodiploidne. Modaal arv = 45. Kõikides rakkudes oli suur submetatsentriline kromosoom.

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 35 tundi

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudest vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

769-P rakud | 300106

Seeding density 3×10^4 rakku/cm² annab 4 päeva jooksul tulemuseks konfluentse monokihi.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 48 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

769-P rakud | 300106

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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