

## 769-P ląstelės | 300106

## Bendra informacija

## Description

769-P ląstelių linija - tai žmogaus inkstų ląstelių karcinomos (RCC) ląstelių linija, gauta 1975 m. atlikus nefrektomiją 63 metų pacientei, sergančiai inkstų ląstelių adenokarcinoma. Ji plačiai naudojama inkstų ląstelių vėžio, ypač šviesių ląstelių inkstų ląstelių karcinomos, kuri yra dažniausia ir mirtiniausia suaugusiųjų inkstų vėžio forma, tyrimams.

Ląstelių linija 769-P išlaiko daugelį pirminės RCC savybių ir turi keletą mutacijų, kurios yra svarbios inkstų ląstelių karcinomai. Joms būdingas von Hippel-Lindau (VHL) naviką slopinančio geno, kuris yra svarbus inkstų vėžio genas ccRCC, galintis aktyvuoti įvairius onkogeninius kelius, įskaitant angiogenezę, ląstelių proliferaciją ir medžiagų apykaitos perprogramavimą, funkcijos praradimą.

769-P ląstelių linija naudojama inkstų vėžio patogenezės molekuliniais mechanizmomis suprasti, priešvėžinių vaistų veiksmingumui tirti ir atsparumo vaistams mechanizmomis tirti. Šios ląstelės ypač naudingos tiriant atsaką į tirozinkinazės inhibitorius (TKI), kurie yra tikslinių gydymo metodų, naudojamų RCC ir RCC potipiams gydyti, klasė.

769-P inkstų vėžio ląstelių linija toliau naudojama tiriant naviko mikroaplinkos vaidmenį sergant inkstų vėžiu ir tiriant tokius ląstelinius procesus kaip apoptozę, ląstelių ciklo reguliavimą ir metastazavimo potencialą. Dėl jų jautrumo hipoksiniams sąlygoms jos tinka tyrimams, kaip ccRCC prisitaiko ir vystosi mažai deguonies turinčioje aplinkoje, esančioje kietuose navikuose.

Apibendrinant galima teigti, kad 769-P ląstelių linija ir kitos RCC ląstelių linijos yra nepakeičiami inkstų karcinomos tyrimų įrankiai, leidžiantys suprasti ccRCC patogenezę, vaistų veiksmingumą ir atsparumo mechanizmus.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Inkstai

**Disease** Inkstų ląstelių karcinoma

**Synonyms** 769P, 769-p

## Charakteristikos

**Age** 63 metai

**Gender** Moteris

**Ethnicity** Kaukazičių

**Morphology** Į epitelį panašus

## 769-P ląstelės | 300106

**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** 769-P (Cytion katalogo numeris 300106)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1050

## Biomolekuliniai duomenys

**Tumorigenic** Formuoja navikus imunosupresiniams žiurkėnams ir nuogoms pelėms

**Ploidy status** Šioje ląstelių linijoje buvo daug tetra-, heksa- ir didesnioploidiško ląstelių (2s populiacijos). Dažniausiai pasitaikanti ląstelių populiacija (32 % ląstelių) turėjo pseudodiploidinį 46,xx,-3,-18,del(7) (q21.12,q22.3), ?t(3q?18q) kariotipą.

**Karyotype** Hipodiploidinis. Modalinis skaičius = 45. Visose ląstelėse buvo didelė submetacentrinė chromosoma.

## Tvarkymas

**Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 35 valandos

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**769-P ląstelės | 300106**

**Seeding density**  $3 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup> per 4 dienas suformuos konfluentinį monosluoksnį.

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 48 valandas.

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, drėkintoje atmosferoje.

## 769-P ląstelės | 300106

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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