

769-P šūnas | 300106

Vispārīga informācija

Description

769-P šūnu līnija ir cilvēka nieru šūnu karcinomas (RCC) šūnu līnija, kas iegūta no 1975. gadā nefrektomijas parauga 63 gadus vecai pacientei ar nieru šūnu adenokarcinomu. To plaši izmanto nieru šūnu vēža, īpaši gaiššūnu nieru šūnu karcinomas (ccRCC), kas ir visizplatītākā un letālākā nieru vēža forma pieaugušajiem, pētījumos.

Šūnu līnija 769-P saglabā daudzas primārās RCC īpašības un satur vairākas mutācijas, kas attiecas uz nieru šūnu karcinomu. Tām piemīt von Hippel-Lindau (VHL) audzēja supresora gēna funkcijas zudums, kas ir svarīgs nieru vēža gēns ccRCC, kurš var aktivizēt dažādus onkogēnus, tostarp angiogēzi, šūnu proliferāciju un metabolisma pārprogrammēšanu.

769-P šūnu līniju izmanto, lai izprastu nieru vēža patoģenēzes molekulāros mehānismus, izpētītu pretvēža zāļu efektivitāti un zāļu rezistences mehānismus. Šīs šūnas ir īpaši noderīgas, lai pētītu atbildes reakciju uz tirozīnkināzes inhibitoriem (TKI), kas ir mērķterapiju grupa, ko izmanto RCC un RCC apakštipu ārstēšanā.

769-P nieru vēža šūnu līniju tālāk izmanto, lai pētītu audzēja mikrovides lomu nieru vēža gadījumā un pētītu tādus šūnu procesus kā apoptozi, šūnu cikla regulācija un metastātiskais potenciāls. Tās spēja reaģēt uz hipoksiskiem apstākļiem padara tās piemērotas pētījumiem par to, kā ccRCC pielāgojas un attīstās zema skābekļa satura vidē, kas sastopama cietos audzējos.

Kopumā 769-P šūnu līnija un citas RCC šūnu līnijas ir neaizstājami instrumenti nieru karcinomas pētniecībā, sniedzot ieskatu ccRCC patoģenēzē, zāļu efektivitātē un rezistences mehānismos.

Organism Cilvēks

Tissue Nieres

Disease Nieru šūnu karcinoma

Synonyms 769P, 769-p

Raksturojums

Age 63 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

769-P šūnas | 300106

Normatīvie dati

Citation	769-P (Cytion kataloga numurs 300106)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1050

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Veido audzējus imūnsupresētiem kāmjiem un kailām pelēm
Ploidy status	Šai šūnu līnijai bija augsts tetra-, hekša- un augstākpolīdu šūnu skaits (2s populācijas). Visbiežāk sastopamajai šūnu populācijai (32 % šūnu) bija pseidodiploīds kariotips 46,xx,-3,-18,del(7) (q21.12,q22.3), ?t(3q?18q).
Karyotype	Hipodiploīdi. Modālais skaits = 45. Visās šūnās bija liela submetacentriskā hromosoma.

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	35 stundas
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	3×10^4 šūnas/cm ² 4 dienu laikā veidos konfluentu monoslāni.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

769-P šūnas | 300106

Post-Thaw Recovery

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 48 stundas.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

769-P šūnas | 300106

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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