

## 786-O šūnas | 300107

## Vispārīga informācija

## Description

786-O šūnas ir cilvēka nieru šūnu karcinomas šūnu līnija, kas iegūta no primārās nieru gaiššūnu adenokarcinomas. Šo šūnu līniju bieži izmanto nieru šūnu karcinomas (RCC) pētījumos, sniedzot vērtīgu ieskatu par šī vēža veida bioloģiskajām īpašībām un atbildes reakciju uz ārstēšanu.

Šūnu līnijai 786-O piemīt gaiššūnu morfoloģija, kas raksturīga visizplatītākajai nieru vēža formai, un tai ir raksturīgas specifiskas ģenētiskas izmaiņas, tostarp von Hippel-Lindau (VHL) audzēja supresora gēna zudums. Šī ģenētiskā iezīme ir nozīmīga, jo tai ir būtiska nozīme daudzu gaiššūnu nieru karcinomu patoģenēzē, ietekmējot hipoksiju inducējošos ceļus, kas ir galvenie šūnu reakcijā uz zema skābekļa satura apstākļiem.

Šīs šūnas ir īpaši noderīgas, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas saistīti ar audzēja augšanu un izdzīvošanu, tostarp ar angiogēzi, metabolismu un šūnu cikla regulāciju saistītos ceļus. VHL deficīta dēļ 786-O šūnas ir lielisks modelis hipoksijas ietekmes izpētei un zāļu, kas iedarbojas uz hipoksijas ceļiem, testēšanai.

Papildus to izmantošanai vēža fundamentālajos pētījumos 786-O šūnas izmanto arī pirmsklīniskajos pētījumos, lai novērtētu jaunu terapeitisko līdzekļu efektivitāti, jo īpaši to, kas vērsti pret angiogēnajiem procesiem, kurus izraisa hipoksiju inducējošo faktoru (HIF) pārmērīga ekspresija. Tas ietver terapiju, kas inhibē HIF ceļu, tirozīnkināzes inhibitorus un imūnsistēmas kontrolpunktu inhibitorus.

Kopumā 786-O šūnas ir spēcīgs modelis, kas ļauj labāk izprast nieru šūnu karcinomas molekulāro pamatu un izstrādāt mērķtiecīgas terapijas, kas varētu uzlabot ārstēšanas rezultātus pacientiem ar šo sarežģīto slimību.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Nieres

**Disease** Nieru šūnu karcinoma

**Metastatic site** Primary tumor site (kidney)

**Applications** Šī šūnu līnija ir optimāla izvēle transfekcijai.

**Synonyms** 786-o, 786O, 7866-0, 786.O, 786-O RCC, RCC 786-O, RCC\_786O, RCC 786O, 786O, 786O, 786-OWT

## Raksturojums

**Age** 58 gadi

**Gender** Vīrieši

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Epitēlijveidīgs

## 786-O šūnas | 300107

**Cell type** Epithelial cells

**Growth properties** Vienslāņa, adhēzija

**Normatīvie dati**

**Citation** 786-0 (Cytion kataloga numurs 300107)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1051

**GMO Status** No genetic modification; wildtype clear cell RCC line with endogenous VHL loss-of-function

**Biomolekulārie dati**

**Antigen expression** CAI<sub>x</sub> +, ko apstiprina FACS analīze.

**Tumorigenic** Imunosupresētiem kāmjiem

**Products** Šūnas ražo PTH (parathormonu) līdzīgu peptīdu, kas ir identisks peptīdiem, ko ražo krūts un plaušu audzēji. Tā N termināla sekvenca ir līdzīga PTH, tam ir PTH līdzīga aktivitāte, un tā molekulmasa ir 6000 daltonu.

**Ploidy status** Hipertriploīds. Y hromosoma tika novērota 60 % analizēto šūnu.

**Karyotype** Hipertriploīds. Y bija 60% pārbaudīto šūnu

**Darbs ar**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

## 786-O šūnas | 300107

**Doubling time** 24 stundas

**Subculturing** Noņemt 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.

**Split ratio** 1 to 5

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> 4 dienu laikā izveidosies konfluents monoslānis.

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izklidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $4 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> 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.

## 786-O šūnas | 300107

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, 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%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**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.

## 786-O šūnas | 300107

### 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 starposms 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 pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

### HLA alēles

**A\***: '03:01:01  
**B\***: '07:02:01, '44:02:01  
**C\***: '05:01:01, '07:02:01  
**DRB1\***: '13:01:01, '15:01:01G  
**DQA1\***: '01:02:01, '01:03:01  
**DQB1\***: '06:02:01, '06:03:01  
**DPB1\***: '04:02:01, '105:01:01  
**E**: '01:01:01, '01:03