

769-P | 300106

Allgemeine Informationen

Description Die Zelllinie 769-P wurde aus Nierenzellen einer 63-jährigen weißen Patientin mit Nierenzelladenokarzinom im Jahr 1975 gewonnen. Die Zelllinie sezerniert hohe Mengen an VEGF und besitzt ein inaktiviertes (mutiertes) vhl-Gen, was auf ein klarzelliges Nierenzellkarzinom schließen lässt. Die Zellen weisen eine epithelähnliche Morphologie auf und haben Mikrovilli, Desmosomen und undeutliche Grenzen. Diese Zelllinie bildet auch in immunsupprimierten Hamstern und Nacktmäusen Tumore, die ihre ursprünglichen histologischen Merkmale beibehalten, was ihre Verwendung als In-vivo-Modell für die Erforschung des Nierenzelladenokarzinoms nahelegt. Diese Zelllinie kann bei der Erforschung des Nierenzell-Adenokarzinoms und der Entwicklung von Therapien helfen.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Nierenzellkarzinom

Synonyms 769P, 769-p

Merkmale

Age 63 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Monolayer, anhaftend

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation 769-P (Cytion Katalognummer 300106)

Biosafety level 1

Expression / Mutation

Tumorigenic Bildet Tumore in immunsupprimierten Hamstern und in Nacktmäusen

769-P | 300106

Ploidy status Diese Zelllinie wies eine hohe Anzahl von tetra-, hexa- und höher-ploiden Zellen (2s-Populationen) auf. Die häufigste Zellpopulation (32 % der Zellen) hatte einen pseudodiploiden Karyotyp von 46,xx,-3,-18,del(7)(q21.12,q22.3), ?t(3q?18q).

Karyotype Hypodiploid. Modale Anzahl = 45. Ein großes submetazentrisches Chromosom war in allen Zellen vorhanden.

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640

Medium supplements 10% FBS, w: 2,1 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃

Passaging solution Accutase

Doubling time 35 Stunden

Subculturing Medium entfernen und die anhaftenden Zellen mit PBS ohne Kalzium und Magnesium spülen (3-5 ml PBS für T25-, 5-10 ml für T75-Zellkulturflaschen). Accutase zugeben (1-2 ml pro T25-, 2,5 ml pro T75-Zellkulturflasche), die Zellschicht muss vollständig bedeckt sein. 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. Die Zellen vorsichtig mit Medium (10 ml) resuspendieren, 3 Minuten bei 300 g zentrifugieren, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Flaschen mit frischem Medium geben.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:12

Seeding density 3 x 10⁴ Zellen/cm² führen innerhalb von 4 Tagen zu einem konfluenten Monolayer.

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freezing recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit 5 x 10⁴ Zellen/cm² plattieren und die Zellen mindestens 48 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und anhaften lassen.

Freeze medium CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

Handling of cryopreserved cultures

Die Zellen werden tiefgefroren auf Trockeneis versandt. Bitte stellen Sie sicher, dass das Fläschchen noch gefroren ist. Wenn eine sofortige Kultivierung nicht beabsichtigt ist, muss das Kryovial nach der Ankunft unter -150 Grad Celsius gelagert werden. Wenn eine sofortige Kultivierung beabsichtigt ist, befolgen Sie bitte die nachstehenden Anweisungen: Schnelles Auftauen durch schnelles Schütteln in einem 37 Grad Celsius warmen Wasserbad innerhalb von 40-60 Sekunden. Das Wasserbad sollte sauberes Wasser enthalten, das ein antimikrobielles Mittel enthält. Sobald die Probe aufgetaut ist, nehmen Sie das Kryovial aus dem Wasserbad. Es sollte noch ein kleiner Eisklumpen zurückbleiben und das Fläschchen sollte noch kalt sein. Von nun an sollten alle Operationen unter aseptischen Bedingungen durchgeführt werden. Überführen Sie das Kryovial in einen sterilen Durchflussschrank und wischen Sie es mit 70%igem Alkohol ab. Das Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium (Raumtemperatur) überführen. Die Zellen vorsichtig resuspendieren. Zentrifugieren Sie bei 300 x g für 3 Minuten und werfen Sie den Überstand. Der Zentrifugationsschritt kann ausgelassen werden, aber in diesem Fall müssen die Reste des Gefriermediums 24 Stunden später entfernt werden. Die Zellen vorsichtig in 10 ml frischem Zellkulturmedium resuspendieren und in zwei T25-Zellkulturflaschen überführen. Alle weiteren Schritte sind im Abschnitt Subkultur beschrieben.

Handling of proliferating cultures

Eine oder zwei Zellkulturflaschen werden mit Zellkulturmedium gefüllt. Fangen Sie das gesamte Medium in 1 bzw. 2 x 50 ml Zentrifugenröhrchen auf. Geben Sie vorsichtig 5 ml Zellkulturmedium in jede T25-Zellkulturflasche. Kontrollieren Sie die Zellmorphologie und den Konfluenzgrad unter dem Mikroskop. Mindestens 24 Stunden lang bei 37 Grad Celsius inkubieren. Schleudern Sie das gesammelte Medium 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen zu sammeln, die sich während des Transports abgelöst haben könnten. Wenn ein Zellpellet sichtbar ist, die Zellen in 5 ml Zellkulturmedium resuspendieren und in eine T25-Zellkulturflasche überführen. Bei 37 Grad Celsius mindestens 24 Stunden lang bebrüten.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Mykoplasmen-Kontaminationen werden durch PCR- und Lumineszenz-basierte Mykoplasmen-Assays ausgeschlossen. Das Nichtvorhandensein von Bakterien-, Pilz- oder Hefekontaminationen wird durch tägliche visuelle Zellüberwachung kontrolliert.

STR profile

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 10,14
D16S539: 9,13
D5S818: 12
D7S820: 10,11
TH01: 6,9,3
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 16
D21S11: 28,30
D18S51: 14,17
Penta E: 7,18
Penta D: 12,16
D8S1179: 12,16
FGA: 20,22

769-P | 300106

HLA-Allele

- 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