Product sheet

Клетки Wilms10M | 300418

Обща информация

Description	Клетъчната линия Wilms10M е създадена от метастатичен белодробен възел на пациент с тумор на Wilms (нефробластом). Подобно на първичния си туморен аналог, Wilms10T, клетъчната линия Wilms10M се характеризира с хомозиготна делеция на гена WT1, което води до пълна липса на протеин WT1. WT1 е от съществено значение за нормалното развитие на бъбреците, а делецията му се свързва с по-агресивно поведение на тумора, особено в метастатични условия. Освен това клетките Wilms10M показват загуба на хетерозиготност (LOH) в хромозомната област 11p15, която включва гена IGF2, което допълнително допринася за злокачествените свойства на тези клетки. Клетките Wilms10M поддържат стабилен кариотип без големи хромозомни пренареждания, освен специфичната делеция на областта WT1. Тази клетъчна линия, получена от метастатична тъкан, е особено ценна за изучаване на молекулярните механизми, които стимулират метастазирането при тумора на Wilms. Клетките проявяват мезенхимни характеристики, като експресират маркери като виментин, а липсват епителни маркери като цитокератин, което е показателно за произхода им от стромалния компонент на тумора. Изследванията на Wilms10M са насочени към сигналните пътища, които са активни в тези метастатични клетки. Протеомичните анализи показаха активирането на няколко рецепторни тирозинкинази (RTKs), включително IGF1R, PDGFRβ и AXL, които участват в подпомагането на оцеляването, пролиферацията и метастатичния потенциал на клетките. Активират се и низходящите сигнални пътища MAPK и PI3K/AKT, които играят ключова роля в поддържането на инвазивния и метастатичен фенотип на клетките Wilms10M. Предвид метастатичния си произход Wilms10M е важен модел за разбиране на молекулярните събития, които са в основата на метастазирането на тумора Wilms, и за разработване на целеви терапевтични стратегии срещу метастатичното заболяване.
Organism	Човек
Tissue	Бъбреци
Disease	Тумор на Вилмс
Applications	Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания
Synonyms	Wilms10

Характеристики

Age	2 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки

Клетки Wilms10M | 300418

Morphology	С форма на вретено
Cell type	Клетки на Вилмс
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	Wilms10M (каталожен номер 300418 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SL

Биомолекулярни данни

Mutational profile	Статус на мутацията на WT1: хомозиготен del WT1 в рамките на del11p13. LOH: няма в 11p13, но UPD в 11p15. Статус на мутацията CTNNB1: хомозиготен del TCT, p.DS45, UPD 3p

Работа с

Culture Medium	Комплект MSCGM (от Lonza)
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки Wilms10M | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки Wilms10M | 300418

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.