

Клетки ImWilms10T | 300419

Обща информация

Description

Клетъчната линия imWilms10T е имортизиран вариант на първичната туморна клетъчна линия Wilms10T, която е получена от проба от тумор на Wilms (нефробластом) на педиатричен пациент. Тази клетъчна линия се отличава с хомозиготна делеция на гена WT1, което води до пълна загуба на функцията на протеина WT1. WT1 е ключов ген за развитието на бъбреците и неговата делеция в imWilms10T отразява тежко генетично нарушение, което се свързва с патогенезата на тумора на Wilms. В допълнение към делецията на WT1, клетките imWilms10T показват загуба на хетерозиготност (LOH) в хромозомната област 11p15, която включва ключови гени като IGF2, допринасящи за агресивното поведение на тумора.

За да се преодолее ограничената продължителност на живота на клетките Wilms10T, е създадена клетъчната линия imWilms10T чрез въвеждане на тройно мутирал голям Т антиген на SV40 (U19d189-97tsA58) в оригиналните туморни клетки. Този процес на имортизация позволява на клетките imWilms10T да се размножават неограничено, като същевременно запазват хромозомната си стабилност, като по този начин осигуряват надежден модел за дългосрочни изследвания. Клетките imWilms10T запазват критичните характеристики на родителската линия Wilms10T, включително пълната загуба на WT1 и наличието на LOH в 11p15, което ги прави безценен ресурс за изучаване на молекулярните последици от делецията на WT1 и свързаните с нея туморогенни процеси.

Клетките imWilms10T са подробно проучени за участието им в ключови сигнални пътища, които стимулират туморната прогресия. Протеомичните анализи разкриха, че тези клетки показват фосфорилиране и активиране на няколко рецепторни тирозинкинази (RTK), като IGF1R, PDGFR β и AXL. Тези активирани рецептори подават сигнали по пътища надолу по веригата, включително по пътищата MAPK и PI3K/AKT, които са от решаващо значение за поддържане на злокачествения фенотип на клетките. Клетъчната линия imWilms10T служи като важен инструмент за изследване на влиянието на пълната загуба на WT1 върху клетъчната сигнализация, туморния растеж и потенциалните терапевтични цели при тумора на Вилмс, особено при по-агресивните подтипове на тумора.

Organism

Човек

Tissue

Бъбреци

Disease

Тумор на Вилмс

Synonyms

ImWilms10 T, IM-WT-10

Характеристики

Age

2 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

Клетки ImWilms10T | 300419

Morphology С форма на вретено

Cell type Клетки на Вилмс

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation ImWilms10T (каталожен номер 300419 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_DF34

GMO Status GMO-S1: Това производно на imWilms10T съдържа същия тройно мутирал SV40 Т-антиген, който позволява условно имортализиране за педиатрична биология на бъбречни тумори. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

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 на 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.

Клетки ImWilms10T | 300419**Fluid renewal** 1 до 2 пъти седмично**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.

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате 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 Atmosphere37°C, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.**Flask Coating**

Няма

Клетки ImWilms10T | 300419

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.

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 микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '18:01:01, '27:05:02
C*: '01:02:01, '12:03:01
DRB1*: '01:01:01, '11:04:01
DQA1*: '01:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01