

Клетки Wilms10T | 300417

Обща информация

Description

Клетъчната линия Wilms10T е получена от първична проба от тумор на Уилмс, получена от пациент с тумор на Уилмс, педиатричен нефробластом. Тази клетъчна линия се характеризира с хомозиготна делеция на гена WT1, което води до пълна загуба на функцията на WT1 - критичен ген, участващ в развитието на бъбреците и поддържането на нормална бъбречна диференциация. За разлика от много други клетъчни линии с тумор на Wilms, при Wilms10T липсва каквато и да е експресия на протеин WT1, което отразява тежките генетични промени, налични в този подтип тумор. Освен това при клетъчната линия Wilms10T се наблюдава загуба на хетерозиготност (LOH) в хромозомната област 11p15, която включва важни гени като IGF2, което допълнително допринася за нейните туморогенни свойства.

Клетките Wilms10T имат стабилен нормален кариотип без големи хромозомни пренареждания, освен специфичната делеция на региона WT1. Тази клетъчна линия е широко използвана за изследване на ефектите от пълната загуба на WT1 върху туморната биология, включително въздействието ѝ върху клетъчната пролиферация, диференциация и отговора към различни сигнални пътища. Клетките запазват мезенхимни характеристики, експресират маркери като виментин, като същевременно липсват епителни маркери като цитокератин, което е показателно за техния стромален произход.

Значителна част от изследванията са насочени към сигналните пътища, активни в клетките Wilms10T. Протеомичните изследвания показваха, че тези клетки показват активиране на няколко рецепторни тирозинкинази (RTKs), като IGF1R, PDGFR β и AXL, за които е известно, че стимулират туморогенезата. Освен това в клетките Wilms10T се активират сигнални пътища надолу по веригата, включително пътищата MAPK и PI3K/AKT, което допринася за агресивния им туморен фенотип. Изчерпателната характеристика на Wilms10T го прави ценен модел за изследване на молекулярните основи на тумора на Wilms с пълна загуба на WT1, както и за проучване на потенциални терапевтични цели при този агресивен туморен подтип.

Organism Човек

Tissue Бъбреци

Disease Тумор на Уилмс

Applications Модел на клетъчна култура in vitro и биохимични изследвания

Synonyms Wilms10

Характеристики

Age 2 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Клетки Wilms10T | 300417

Morphology С форма на вретено

Cell type Клетки на Вилмс

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation Wilms10T (каталожен номер 300417 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

Doubling time 46 часа

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 ресуспендирайте, 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.

Seeding density 4×10^4 клетки/cm²

Клетки Wilms10T | 300417**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 Wilms10T | 300417

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