

Články ImWilms10T | 300419

Obecné informace

Description

Buněčná linie imWilms10T je immortalizovanou variantou primární nádorové buněčné linie Wilms10T, která byla odvozena ze vzorku Wilmsova nádoru (nefroblastomu) dětského pacienta. Tato buněčná linie se vyznačuje homozygotní delecí genu WT1, což vede k úplné ztrátě funkce proteinu WT1. WT1 je klíčový gen pro vývoj ledvin a jeho delece v imWilms10T odráží závažnou genetickou poruchu, která je spojena s patogenezí Wilmsova nádoru. Kromě delece WT1 vykazují buňky imWilms10T ztrátu heterozygosity (LOH) v chromozomální oblasti 11p15, která zahrnuje klíčové geny, jako je IGF2, což přispívá k agresivnímu chování nádoru.

Aby se překonala omezená životnost buněk Wilms10T, byla buněčná linie imWilms10T vytvořena vnesením trojnásobně mutovaného velkého antigenu SV40 T (U19d189-97tsA58) do původních nádorových buněk. Tento proces immortalizace umožňuje buňkám imWilms10T neomezenou proliferaci při zachování chromozomální stability, a tím poskytuje spolehlivý model pro dlouhodobé studie. Buňky imWilms10T si zachovávají kritické vlastnosti rodičovské linie Wilms10T, včetně úplné ztráty WT1 a přítomnosti LOH v 11p15, což z nich činí neocenitelný zdroj pro studium molekulárních důsledků delece WT1 a souvisejících nádorových procesů.

Buňky imWilms10T byly podrobně studovány z hlediska jejich zapojení do klíčových signálních drah, které řídí progresi nádorů. Proteomické analýzy odhalily, že tyto buňky vykazují fosforylaci a aktivaci několika receptorových tyrozinkináz (RTK), jako jsou IGF1R, PDGFR β a AXL. Tyto aktivované receptory signalizují prostřednictvím navazujících drah, včetně drah MAPK a PI3K/AKT, které jsou klíčové pro udržení maligního fenotypu buněk. Buněčná linie imWilms10T slouží jako důležitý nástroj pro zkoumání dopadu úplné ztráty WT1 na buněčnou signalizaci, růst nádoru a potenciální terapeutické cíle u Wilmsova nádoru, zejména u agresivnějších podtypů nádoru.

Organism

Člověk

Tissue

Ledviny

Disease

Wilmsův nádor

Synonyms

ImWilms10 T, IM-WT-10

Charakteristika

Age

2 roky

Gender

Ženy

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Vřetenovitý tvar

Cell type

Wilmsovy buňky

Články ImWilms10T | 300419

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation ImWilms10T (katalogové číslo Cytion 300419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_DF34

Depositor B. Royer-Pokora

GMO Status GMO-S1: Tento derivát imWilms10T obsahuje stejný trojnásobně mutovaný SV40 T-antigen, který umožňuje podmíněnou immortalizaci pro biologii nádorů dětských ledvin. Tato klasifikace platí pouze v Německu a může se lišit v jiných zemích.

Biomolekulární data

Mutational profile Stav mutace WT1: homozygotní del WT1 v rámci del11p13, LOH: žádná v 11p13, ale UPD v 11p15, stav mutace CTNNB1: homozygotní del TCT, p.DS45, UPD 3p

Zpracování

Culture Medium Souprava MSCGM (od společnosti Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčiku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Fluid renewal 1 až 2krát týdně

Článek ImWilms10T | 300419

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Články ImWilms10T | 300419

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,12
D16S539: 9,10
D5S818: 10,12
D7S820: 11,12
TH01: 8,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,18
D3S1358: 17,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,16
Penta E: 7,10
Penta D: 10,13
D8S1179: 10,15
FGA: 22,24

Alely HLA

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