

Buňky Wilms10T | 300417

Obecné informace

Description

Buněčná linie Wilms10T byla odvozena ze vzorku primárního Wilmsova nádoru získaného od pacienta s Wilmsovým nádorem, dětským nefroblastomem. Tato buněčná linie je charakterizována homozygotní delecí genu WT1, což vede k úplné ztrátě funkce WT1, což je kritický gen podílející se na vývoji ledvin a udržování normální diferenciace ledvin. Na rozdíl od mnoha jiných buněčných linií Wilmsova nádoru chybí u Wilms10T exprese proteinu WT1, což odráží závažné genetické změny přítomné u tohoto podtypu nádoru. Buněčná linie Wilms10T navíc vykazuje ztrátu heterozygosity (LOH) v chromozomální oblasti 11p15, která zahrnuje důležité geny, jako je IGF2, což dále přispívá k jejím nádorovým vlastnostem.

Buňky Wilms10T mají stabilní normální karyotyp bez větších chromozomálních přestaveb kromě specifické delece oblasti WT1. Tato buněčná linie byla hojně využívána ke studiu vlivu úplné ztráty WT1 na biologii nádorů, včetně jejího dopadu na buněčnou proliferaci, diferenciaci a odpověď na různé signální dráhy. Buňky si zachovávají mezenchymální vlastnosti a exprimují markery, jako je vimentin, zatímco postrádají epiteliální markery, jako je cytokeratin, což svědčí o jejich stromálním původu.

Významný výzkum se zaměřil na signální dráhy aktivní v buňkách Wilms10T. Proteomické studie prokázaly, že tyto buňky vykazují aktivaci několika receptorových tyrozinkináz (RTK), jako jsou IGF1R, PDGFR β a AXL, o nichž je známo, že podporují tumorigenezi. Kromě toho jsou v buňkách Wilms10T aktivovány navazující signální dráhy, včetně drah MAPK a PI3K/AKT, což přispívá k jejich agresivnímu nádorovému fenotypu. Komplexní charakteristika Wilms10T z něj činí cenný model pro zkoumání molekulárních základů Wilmsova nádoru s úplnou ztrátou WT1 a také pro zkoumání potenciálních terapeutických cílů u tohoto agresivního nádorového podtypu.

Organism	Člověk
Tissue	Ledviny
Disease	Wilmsův nádor
Applications	Model buněčné kultury in vitro a biochemické studie
Synonyms	Wilms10

Charakteristika

Age	2 roky
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Vřetenovitý tvar

Buňky Wilms10T | 300417**Cell type** Wilmsovy buňky**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** Wilms10T (katalogové číslo Cytion 300417)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Depositor** B. Royer-Pokora**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**Doubling time** 46 hodin**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. 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.**Seeding density** 4×10^4 buněk/cm²

Buňky Wilms10T | 300417**Fluid renewal** 1 až 2krát týdně**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 kryo.

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 °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 °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 zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x 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 Atmosphere37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

Buňky Wilms10T | 300417

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 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

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 vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y
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

Buňky Wilms10T | 300417

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