

## Κύτταρα ImWilms10T | 300419

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά imWilms10T είναι μια αθάνατη παραλλαγή της πρωτογενούς κυτταρικής σειράς όγκου Wilms10T, η οποία προέρχεται από δείγμα όγκου Wilms (νεφροβλάστωμα) σε παιδιατρικό ασθενή. Αυτή η κυτταρική σειρά διακρίνεται από μια ομόζυγη διαγραφή του γονιδίου WT1, με αποτέλεσμα την πλήρη απώλεια της λειτουργίας της πρωτεΐνης WT1. Το WT1 είναι ένα κρίσιμο γονίδιο για την ανάπτυξη των νεφρών και η διαγραφή του στο imWilms10T αντικατοπτρίζει μια σοβαρή γενετική διαταραχή που σχετίζεται με την παθογένεια του όγκου Wilms. Εκτός από τη διαγραφή του WT1, τα κύτταρα imWilms10T εμφανίζουν απώλεια ετεροζυγωτίας (LOH) στη χρωμοσωμική περιοχή 11p15, η οποία περιλαμβάνει βασικά γονίδια όπως ο IGF2, συμβάλλοντας στην επιθετική συμπεριφορά του όγκου.

Για να ξεπεραστεί η περιορισμένη διάρκεια ζωής των κυττάρων Wilms10T, δημιουργήθηκε η κυτταρική σειρά imWilms10T με την εισαγωγή ενός τριπλά μεταλλαγμένου αντιγόνου SV40 large T (U19dl89-97tsA58) στα αρχικά καρκινικά κύτταρα. Αυτή η διαδικασία αθανατισμού επιτρέπει στα κύτταρα imWilms10T να πολλαπλασιάζονται επ' αόριστον, διατηρώντας παράλληλα τη χρωμοσωμική σταθερότητα, παρέχοντας έτσι ένα αξιόπιστο μοντέλο για μακροχρόνιες μελέτες. Τα κύτταρα imWilms10T διατηρούν τα κρίσιμα χαρακτηριστικά της γονικής γραμμής Wilms10T, συμπεριλαμβανομένης της πλήρους απώλειας του WT1 και της παρουσίας LOH στο 11p15, καθιστώντας τα ανεκτίμητη πηγή για τη μελέτη των μοριακών συνεπειών της διαγραφής του WT1 και των σχετικών καρκινικών διαδικασιών.

τα κύτταρα imWilms10T έχουν μελετηθεί εκτενώς για τη συμμετοχή τους σε βασικά σηματοδοτικά μονοπάτια που οδηγούν στην εξέλιξη των όγκων. Οι πρωτεομικές αναλύσεις έχουν αποκαλύψει ότι τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση διαφόρων κινασών τυροσίνης υποδοχέων (RTKs), όπως IGF1R, PDGFRβ και AXL. Αυτοί οι ενεργοποιημένοι υποδοχείς σηματοδοτούν μέσω μεταγενέστερων μονοπατιών, συμπεριλαμβανομένων των μονοπατιών MAPK και PI3K/AKT, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση του κακοήθους φαινοτύπου των κυττάρων. Η κυτταρική σειρά imWilms10T χρησιμεύει ως σημαντικό εργαλείο για τη διερεύνηση των επιπτώσεων της πλήρους απώλειας του WT1 στην κυτταρική σηματοδότηση, την ανάπτυξη του όγκου και τους πιθανούς θεραπευτικούς στόχους στον όγκο Wilms, ιδίως για τους πιο επιθετικούς υποτύπους όγκων.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Νεφρός

**Disease** Όγκος Wilms

**Synonyms** ImWilms10 T, IM-WT-10

## Χαρακτηριστικά

**Age** 2 χρόνια

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Καυκάσιος

## Κύτταρα ImWilms10T | 300419

**Morphology** Ατρακτοειδές σχήμα

**Cell type** Κύτταρα Wilms

**Growth properties** Προσκολλημένο

### Ρυθμιστικά δεδομένα

**Citation** ImWilms10T (αριθμός καταλόγου Cytion 300419)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_DF34

**GMO Status** GMO-S1: Αυτό το παράγωγο imWilms10T περιέχει το ίδιο τριπλά μεταλλαγμένο SV40 T-αντιγόνο που επιτρέπει την υπό όρους αθανασία για τη βιολογία παιδιατρικών νεφρικών όγκων. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

### Βιομοριακά δεδομένα

**Mutational profile** Κατάσταση μετάλλαξης του WT1: ομοζυγωτική del WT1 εντός του del11p13, LOH: όχι στο 11p13 αλλά UPD στο 11p15, κατάσταση μετάλλαξης του CTNNB1: ομοζυγωτική del TCT, p.DS45, UPD 3p

### Χειρισμός

**Culture Medium** Κιτ MSCGM (από τη Lonza)

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

**Κύτταρα ImWilms10T | 300419****Fluid renewal** 1 έως 2 φορές την εβδομάδα**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere** $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.**Flask Coating**

Κανένα

**Κύτταρα ImWilms10T | 300419****Freezing Procedure**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

**Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA****Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**HLA αλληλόμορφα**

**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