

Wilms10T rakud | 300417

Üldine teave

Description

Wilms10T rakuliin on saadud Wilmsi kasvaja primaarsest proovist, mis on saadud Wilmsi kasvaja (pediaatriline nefroblastoom) patsiendilt. Seda rakuliini iseloomustab WT1 geeni homosügootne deletsioon, mis põhjustab WT1 funktsiooni täielikku kadumist, mis on kriitiline geen, mis osaleb neerude arengus ja normaalse neerude diferentseerumise säilitamises. Erinevalt paljudest teistest Wilmsi tuumori rakuliinidest puudub Wilms10T-l igasugune WT1 valgu ekspressioon, mis peegeldab selles kasvajate alatüübis esinevaid tõsiseid geneetilisi muutusi. Lisaks sellele esineb Wilms10T rakuliinil heterosügootia kadu (LOH) kromosoomi 11p15 piirkonnas, mis hõlmab olulisi geene, nagu IGF2, mis aitab veelgi kaasa selle tuumorigeensetele omadustele.

Wilms10T rakkudel on stabiilne normaalne karütotüüp, millel puuduvad suuremad kromosoomiümberkorraldused, välja arvatud WT1 piirkonna spetsiifiline deletsioon. Seda rakuliini on laialdaselt kasutatud, et uurida WT1 täieliku kadumise mõju kasvajate bioloogiale, sealhulgas selle mõju rakkude proliferatsioonile, diferentseerumisele ja vastusele erinevatele signaaliradadele. Rakud säilitavad mesenhüümilised omadused, väljendades selliseid markereid nagu vimentiin, kuid neil puuduvad epiteelimerkid nagu tsütokeratiin, mis viitab nende stromaalsele päritolule.

Märkimisväärsed uuringud on keskendunud Wilms10T rakkudes aktiivsetele signaaliradadele. Proteoomilised uuringud on näidanud, et neis rakkudes aktiveeruvad mitmed retseptori türosiini kinaasid (RTKd), nagu IGF1R, PDGFR β ja AXL, mis teadaolevalt soodustavad kasvajate teket. Lisaks on Wilms10T rakkudes aktiveeritud allavoolu signaaliradasid, sealhulgas MAPK ja PI3K/AKT, mis aitavad kaasa nende agressiivsele kasvajafenotüübile. Wilms10T põhjalik iseloomustus teeb sellest väärtusliku mudeli Wilmsi kasvajate molekulaarsete aluste uurimiseks täieliku WT1 kadumisega, samuti potentsiaalsete terapeutiliste sihtmärkide uurimiseks selle agressiivse kasvajate alatüübi puhul.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Disease Wilmsi kasvaja

Applications In vitro rakukultuurimudel ja biokeemilised uuringud

Synonyms Wilms10

Omadused

Age 2 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Spindlikujuline

Wilms10T rakud | 300417**Cell type** Wilmsi rakud**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** Wilms10T (Cytioni katalooginumber 300417)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Biomolekulaarsed andmed****Mutational profile** WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne del WT1 del11p13 piires. LOH: puudub 11p13-s, kuid UPD 11p15-s. CTNNB1 mutatsiooni staatus: homosügootne del TCT, p.DS45, UPD 3p**Töötlemine****Culture Medium** MSCGM komplekt (Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 46 tundi**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 4×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** 1 kuni 2 korda nädalas

Wilms10T rakud | 300417**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemusi.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Wilms10T rakud | 300417

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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