

ImWilms10T kennot | 300419

Yleisiä tietoja

Description

ImWilms10T-solulinja on kuolematon muunnos Wilms10T-primaarisesta kasvainsolulinjasta, joka on peräisin lapsipotilaan Wilms-kasvaimesta (nefroblastoomasta) otetusta näytteestä. Tämän solulinjan erottaa WT1-geenin homotsygoottinen deleetio, joka johtaa WT1-proteiinin toiminnan täydelliseen katoamiseen. WT1 on ratkaisevan tärkeä geeni munuaisten kehitykselle, ja sen deleetioituminen imWilms10T:ssä kuvastaa vakavaa geneettistä häiriötä, joka liittyy Wilmsin kasvaimen patogeneesiin. WT1-deleetion lisäksi imWilms10T-soluissa esiintyy heterotsygotian menetystä (LOH) kromosomialueella 11p15, johon kuuluu keskeisiä geenejä, kuten IGF2, mikä vaikuttaa osaltaan kasvaimen aggressiiviseen käyttäytymiseen.

Wilms10T-solujen rajallisen eliniän voittamiseksi imWilms10T-solulinja perustettiin tuomalla alkuperäisiin kasvainsoluihin kolminkertainen mutaatio SV40 large T -antigeeni (U19dl89-97tsA58). Tämän kuolematomuusprosessin ansiosta imWilms10T-solut voivat lisääntyä loputtomiin säilyttäen samalla kromosomistabiilisuuden, mikä tarjoaa luotettavan mallin pitkäaikaisia tutkimuksia varten. ImWilms10T-solut säilyttävät vanhempien Wilms10T-linjan kriittiset ominaisuudet, mukaan lukien WT1:n täydellinen menetys ja LOH:n esiintyminen 11p15:ssä, mikä tekee niistä korvaamattoman arvokkaan resurssin WT1-deleetion molekulaaristen seurausten ja siihen liittyvien kasvainten syntyprosessien tutkimiseen.

imWilms10T-soluja on tutkittu laajasti niiden osallistumisen vuoksi keskeisiin signaalireitteihin, jotka ohjaavat kasvainten etenemistä. Proteomianalyysit ovat paljastaneet, että näissä soluissa esiintyy useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten IGF1R:n, PDGFRβ:n ja AXL:n, fosforylaatiota ja aktivoitumista. Nämä aktivoituneet reseptorit välittävät signaalia alempien polkujen, kuten MAPK- ja PI3K/AKT-reittien, kautta, jotka ovat ratkaisevia solujen pahanlaatuisen fenotyypin ylläpitämisessä. ImWilms10T-solulinja toimii tärkeänä välineenä tutkittaessa täydellisen WT1-kadon vaikutusta solujen signalointiin, kasvaimen kasvuun ja mahdollisiin terapeuttisiin kohteisiin Wilmsin kasvaimessa, erityisesti aggressiivisimmissä kasvainten alatyypeissä.

Organism Ihminen

Tissue Munuaiset

Disease Wilmsin kasvain

Synonyms ImWilms10 T, IM-WT-10

Ominaisuudet

Age 2 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Karanmuotoinen

ImWilms10T kennot | 300419

Cell type Wilmsin solut

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation ImWilms10T (Cytionin luettelonumero 300419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_DF34

GMO Status GMO-S1: Tämä imWilms10T-johdannainen sisältää saman kolmoismutantti SV40 T-antigeenin, joka mahdollistaa ehdollisen kuolemattomuuden lasten munuaistuumorien biologiaa varten. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Mutational profile WT1-mutaatiotilanne: homotsygoottinen del WT1 del11p13:ssa, LOH: ei 11p13:ssa mutta UPD 11p15:ssa, CTNNB1-mutaatiotilanne: homotsygoottinen del TCT, p.DS45, UPD 3p

Käsittely

Culture Medium MSCGM-pakkaus (Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Fluid renewal 1-2 kertaa viikossa

ImWilms10T kennot | 300419**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

ImWilms10T kennot | 300419

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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