

ImWilms10T cellák | 300419

Általános információk

Description

Az imWilms10T sejtvonal a Wilms10T primer tumorsejtvonal immortalizált változata, amely egy gyermekbeteg Wilms-tumor (nefroblastoma) mintájából származik. Ezt a sejtvonalat a WT1 gén homozigóta deléciója különbözteti meg, ami a WT1 fehérje funkciójának teljes elvesztését eredményezi. A WT1 a vese fejlődése szempontjából kulcsfontosságú gén, és deléciója az imWilms10T-ben olyan súlyos genetikai zavart tükröz, amely összefügg a Wilms-tumor patogenezisével. A WT1 deléció mellett az imWilms10T sejtek heterozigotázisvesztést (LOH) mutatnak a 11p15 kromoszómaregióban, amely olyan kulcsfontosságú géneket tartalmaz, mint az IGF2, ami hozzájárul a tumor agresszív viselkedéséhez.

A Wilms10T sejtek korlátozott élettartamának leküzdése érdekében az imWilms10T sejtvonalat úgy hozták létre, hogy az eredeti tumorsejtekbe egy háromszorosan mutáns SV40 nagy T antigént (U19dl89-97tsA58) vittek be. Ez az immortalizációs folyamat lehetővé teszi, hogy az imWilms10T sejtek korlátlanul szaporodjanak, miközben megőrzik a kromoszóma-stabilitást, ezáltal megbízható modellt biztosítanak a hosszú távú vizsgálatokhoz. Az imWilms10T sejtek megőrzik a szülői Wilms10T vonal kritikus jellemzőit, beleértve a WT1 teljes elvesztését és a 11p15-ös LOH jelenlétét, így felbecsülhetetlen értékű forrássá válnak a WT1 deléció molekuláris következményeinek és a kapcsolódó tumorogén folyamatok tanulmányozásához.

az imWilms10T sejteket széles körben tanulmányozták a tumorprogressziót irányító kulcsfontosságú jelátviteli útvonalakban való részvételük szempontjából. Proteomikai elemzések kimutatták, hogy ezek a sejtek számos receptor-tirozin-kináz (RTK), például az IGF1R, PDGFR β és AXL foszforilációját és aktiválódását mutatják. Ezek az aktivált receptorok a downstream útvonalakon keresztül jeleznek, beleértve a MAPK és a PI3K/AKT útvonalakat, amelyek kulcsfontosságúak a sejtek rosszindulatú fenotípusának fenntartásában. Az imWilms10T sejtvonal fontos eszközként szolgál a WT1 teljes elvesztésének a sejtek jelátvitelére, a tumor növekedésére és a Wilms-tumor potenciális terápiás célpontjaira gyakorolt hatásának vizsgálatához, különösen az agresszívabb tumor altípusok esetében.

Organism

Emberi

Tissue

Vese

Disease

Wilms tumor

Synonyms

ImWilms10 T, IM-WT-10

Jellemzők

Age

2 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Orsó alakú

ImWilms10T cellák | 300419

Cell type Wilms sejtek**Growth properties** Adherent

Szabályozási adatok

Citation ImWilms10T (Cytion katalógusszám 300419)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DF34**GMO Status** GMO-S1: Ez az imWilms10T származék ugyanazt a háromszorosan mutáns SV40 T-antigént tartalmazza, amely lehetővé teszi a feltételes immortalizációt a gyermekkori vesetumor biológiája számára. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, és máshol eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Mutational profile WT1 mutációs státusz: homozigóta del WT1 a del11p13-ban, LOH: nincs a 11p13-ban, de UPD a 11p15-ben, CTNNB1 mutációs státusz: homozigóta del TCT, p.DS45, UPD 3p-ban

A kezelése

Culture Medium MSCGM kit (a Lonzától)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Fluid renewal** hetente 1-2 alkalommal

ImWilms10T cellák | 300419**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ImWilms10T cellák | 300419**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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