

Wilms10T sejtek | 300417

Általános információk

Description

A Wilms10T sejtvonal egy gyermekkori nefroblastómában, Wilms-tumorban szenvedő betegből nyert primer Wilms-tumor mintából származik. Ezt a sejtvonalat a WT1 gén homozigóta deléciója jellemzi, ami a WT1 funkció teljes elvesztéséhez vezet, amely egy kritikus gén, amely részt vesz a vese fejlődésében és a normális vese differenciálódás fenntartásában. Sok más Wilms-tumor-sejtvonaltól eltérően a Wilms10T-ben nem expresszálódik a WT1 fehérje, ami tükrözi az ebben a tumor altípusban jelen lévő súlyos genetikai elváltozásokat. Ezenkívül a Wilms10T sejtvonal heterozigotizációsvesztést (LOH) mutat a 11p15 kromoszómaregióban, amely olyan fontos géneket tartalmaz, mint az IGF2, ami tovább növeli tumorigén tulajdonságait.

A Wilms10T sejtek stabilan normális kariotípussal rendelkeznek, a WT1 régió specifikus delécióján kívül nincsenek jelentősebb kromoszóma-átrendeződések. Ezt a sejtvonalat széles körben használták a WT1 teljes elvesztésének a tumorbiológiára gyakorolt hatásának tanulmányozására, beleértve a sejtek proliferációjára, differenciálódására és a különböző jelátviteli útvonalakra adott válaszra gyakorolt hatását. A sejtek megtartják a mesenchymális jellegzetességeket, olyan markereket expresszálva, mint a vimentin, miközben hiányoznak az epithelialis markerek, mint a citokeratin, ami a stromális eredetükre utal.

Jelentős kutatások összpontosítottak a Wilms10T sejtekben aktív jelátviteli útvonalakra. Proteomikai vizsgálatok kimutatták, hogy ezek a sejtek számos receptor-tirozin-kináz (RTK), például az IGF1R, PDGFR β és AXL aktiválódását mutatják, amelyekről ismert, hogy a tumorigenezist irányítják. Emellett a Wilms10T sejtekben aktiválódnak a downstream jelátviteli útvonalak, beleértve a MAPK és a PI3K/AKT útvonalakat, ami hozzájárul agresszív tumorfenotípusukhoz. A Wilms10T átfogó jellemzése értékes modellté teszi a teljes WT1-vesztéssel járó Wilms-tumor molekuláris alapjainak vizsgálatához, valamint az ebben az agresszív tumor altípusban lehetséges terápiás célpontok feltárásához.

Organism Emberi

Tissue Vese

Disease Wilms-tumor

Applications In vitro sejtenyésztési modell és biokémiai vizsgálatok

Synonyms Wilms10

Jellemzők

Age 2 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

Wilms10T sejtek | 300417

Morphology Orsó alakú

Cell type Wilms sejtek

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation Wilms10T (Cytion katalógusszám: 300417)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SL

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium MSCGM kit (a Lonzától)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 46 óra

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 percre 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.

Seeding density 4×10^4 sejt/cm²

Wilms10T sejtek | 300417

Fluid renewal hetente 1-2 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 fertőtlenítsük a krioüklét 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 sejt kölcsönhatás 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Wilms10T sejtek | 300417

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.

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 / Genetikai profil / HLA**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