

Sel ImWilms10T | 300419

Informasi umum

Description

Garis sel imWilms10T adalah varian yang diabadikan dari garis sel tumor primer Wilms10T, yang berasal dari sampel tumor Wilms (nefroblastoma) pada pasien anak. Garis sel ini dibedakan dengan penghapusan gen WT1 yang homozigot, yang mengakibatkan hilangnya fungsi protein WT1 secara total. WT1 adalah gen yang sangat penting untuk perkembangan ginjal, dan penghapusannya pada imWilms10T mencerminkan gangguan genetik yang parah yang terkait dengan patogenesis tumor Wilms. Selain penghapusan WT1, sel imWilms10T menunjukkan hilangnya heterozigositas (LOH) di daerah kromosom 11p15, yang mencakup gen-gen kunci seperti IGF2, yang berkontribusi terhadap perilaku agresif tumor.

Untuk mengatasi umur sel Wilms10T yang terbatas, lini sel imWilms10T dibuat dengan memasukkan antigen T besar SV40 mutan tiga kali lipat (U19dl89-97tsA58) ke dalam sel tumor asli. Proses pengabdian ini memungkinkan sel imWilms10T untuk berkembang biak tanpa batas waktu dengan tetap mempertahankan stabilitas kromosom, sehingga menyediakan model yang dapat diandalkan untuk studi jangka panjang. Sel imWilms10T mempertahankan karakteristik penting dari garis Wilms10T orang tua, termasuk hilangnya WT1 secara total dan keberadaan LOH pada 11p15, menjadikannya sumber daya yang tak ternilai untuk mempelajari konsekuensi molekuler dari penghapusan WT1 dan proses tumorigenik terkait.

sel imWilms10T telah dipelajari secara ekstensif karena keterlibatannya dalam jalur pensinyalan utama yang mendorong perkembangan tumor. Analisis proteomik telah mengungkapkan bahwa sel-sel ini menunjukkan fosforilasi dan aktivasi beberapa reseptor tirosin kinase (RTK), seperti IGF1R, PDGFR β , dan AXL. Reseptor yang diaktifkan ini memberi sinyal melalui jalur hilir, termasuk jalur MAPK dan PI3K / AKT, yang sangat penting untuk mempertahankan fenotipe ganas sel. Garis sel imWilms10T berfungsi sebagai alat penting untuk menyelidiki dampak hilangnya WT1 lengkap pada pensinyalan seluler, pertumbuhan tumor, dan target terapeutik potensial pada tumor Wilms, terutama untuk subtipe tumor yang lebih agresif.

Organism Manusia

Tissue Ginjal

Disease Tumor Wilms

Synonyms ImWilms10 T, IM-WT-10

Karakteristik

Age 2 tahun

Gender Perempuan

Ethnicity Kaukasia

Morphology Berbentuk gelendong

Sel ImWilms10T | 300419**Cell type** Sel Wilms**Growth properties** Patuh**Data Peraturan****Citation** ImWilms10T (Nomor katalog Cytion 300419)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DF34**GMO Status** GMO-S1: Turunan imWilms10T ini mengandung antigen T-antigen SV40 mutan tiga yang sama yang memungkinkan pengawetan bersyarat untuk biologi tumor ginjal anak. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.**Data Biomolekuler****Mutational profile** Status mutasi WT1: homozigot del WT1 dalam del11p13, LOH: tidak ada di 11p13 tetapi UPD di 11p15, status mutasi CTNNB1: homozigot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Penanganan****Culture Medium** Kit MSCGM (dari Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.**Fluid renewal** 1 hingga 2 kali per minggu

Sel ImWilms10T | 300419

Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel ImWilms10T | 300419

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Alel HLA

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