

Wilms10T ląstelės | 300417

Bendra informacija

Description

Wilms10T ląstelių linija buvo gauta iš pirminio Vilmsio naviko mėginio, gauto iš paciento, sergančio Vilmsio naviku - vaikų nefroblastoma. Šiai ląstelių linijai būdinga homozigotinė WT1 geno delecija, dėl kurios visiškai prarandama WT1 funkcija, t. y. labai svarbus genas, dalyvaujantis inkstų vystymesi ir palaikantis normalią inkstų diferenciaciją. Skirtingai nuo daugelio kitų Vilmsio naviko ląstelių linijų, Wilms10T neturi WT1 baltymo raiškos, o tai atspindi sunkius genetinius pakitimus, būdingus šiam naviko potipiui. Be to, Wilms10T ląstelių linija pasižymi heterozigotiškumo praradimu (LOH) 11p15 chromosomos srityje, kurioje yra tokie svarbūs genai kaip IGF2, o tai dar labiau prisideda prie jos navikinių savybių.

Wilms10T ląstelės turi stabilų normalų kariotipą be didesnių chromosomų pertvarkymų, išskyrus specifinį WT1 srities išbraukimą. Ši ląstelių linija buvo plačiai naudojama tiriant visiško WT1 praradimo poveikį naviko biologijai, įskaitant jo poveikį ląstelių proliferacijai, diferenciacijai ir atsakui į įvairius signalų kelius. Ląstelės išlaiko mezenchimines savybes, išreiškia tokius žymenis kaip vimentinas, tačiau neturi epitelinių žymenų, tokių kaip citokeratinas, o tai rodo jų stromos kilmę.

Daug dėmesio skirta Vilmsio10T ląstelėse veikiančių signalų keliams tirti. Proteominiai tyrimai parodė, kad šiose ląstelėse aktyvuotos kelios receptorių tirozino kinazės (RTK), tokios kaip IGF1R, PDGFRβ ir AXL, kurios, kaip žinoma, lemia navikinį vystymąsi. Be to, Wilms10T ląstelėse suaktyvėja tolesni signaliniai keliai, įskaitant MAPK ir PI3K/AKT kelius, kurie lemia agresyvų naviko fenotipą. Dėl išsamių Wilms10T ląstelių savybių jos tampa vertingu modeliu tiriant Wilmsio naviko, kai visiškai prarastas WT1, molekulinis pagrindus ir galimus šio agresyvaus naviko potipio terapinius taikinius.

Organism Žmogus

Tissue Inkstai

Disease Vilmsio navikas

Applications In vitro ląstelių kultūros modelis ir biocheminiai tyrimai

Synonyms Wilms10

Charakteristikos

Age 2 metai

Gender Moteris

Ethnicity Kaukaziečių

Morphology Verpstės formos

Wilms10T ląstelės | 300417

Cell type Vilmsio ląstelės**Growth properties** Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation Wilms10T (Cytion katalogo numeris 300417)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile WT1 mutacijos būklė: homozigotinė del WT1 del11p13. LOH: nėra 11p13, bet UPD 11p15. CTNNB1 mutacijos būklė: homozigotinis del TCT, p.DS45, UPD 3p

Tvarkymas

Culture Medium MSCGM rinkinys (iš "Lonza")**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 46 valandos**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 4×10^4 ląstelės/cm²**Fluid renewal** 1-2 kartus per savaitę

Wilms10T ląstelės | 300417

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Wilms10T ląstelės | 300417

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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