

ImWilms10T elementi | 300419

Vispārīga informācija

Description

ImWilms10T šūnu līnija ir Wilms10T primārās audzēja šūnu līnijas imortizēts variants, kas iegūts no Wilms audzēja (nefroblastomas) parauga pediātriskā pacienta organismā. Šī šūnu līnija atšķiras ar homozigotisku WT1 gēna deleciju, kā rezultātā pilnībā tiek zaudēta WT1 proteīna funkcija. WT1 ir svarīgs gēns nieru attīstībai, un tā izdzēšana imWilms10T atspoguļo nopietnu ģenētisku traucējumu, kas saistīts ar Vilmsa audzēja patoģenēzi. Papildus WT1 delecijai imWilms10T šūnām ir arī heterozigotizātes zudums (LOH) 11p15 hromosomu apgabalā, kurā ietilpst tādi svarīgi gēni kā IGF2, kas veicina audzēja agresīvu uzvedību.

Lai pārvarētu Wilms10T šūnu ierobežoto dzīves ilgumu, tika izveidota imWilms10T šūnu līnija, ieviešot sākotnējās audzēja šūnās trīskāršu mutantu SV40 lielo T antigēnu (U19dl89-97tsA58). Šis imortalizācijas process ļauj imWilms10T šūnām vairoties neierobežoti ilgi, vienlaikus saglabājot hromosomu stabilitāti, tādējādi nodrošinot uzticamu modeli ilgtermiņa pētījumiem. ImWilms10T šūnas saglabā vecāku Wilms10T līnijas kritiskās īpašības, tostarp pilnīgu WT1 zudumu un LOH klātbūtni 11p15, padarot tās par nenovērtējamu resursu WT1 delecijas un ar to saistīto audzēja veidošanās procesu molekulāro seku pētīšanai.

ImWilms10T šūnas ir plaši pētītas saistībā ar to iesaistīšanos galvenajos signālu ceļos, kas veicina audzēju progresēšanu. Proteomiskās analīzes ir atklājušas, ka šajās šūnās fosforilē un aktivizējas vairākas receptoru tirozīna kināzes (RTK), piemēram, IGF1R, PDGFRβ un AXL. Šie aktivizētie receptori signalizē caur pakārtotajiem ceļiem, tostarp MAPK un PI3K/AKT ceļiem, kas ir būtiski šūnu ļaundabīgā fenotipa uzturēšanai. ImWilms10T šūnu līnija kalpo kā svarīgs instruments, lai pētītu pilnīgu WT1 zuduma ietekmi uz šūnu signalizāciju, audzēja augšanu un potenciālajiem terapeitiskajiem mērķiem Vilmsa audzēja gadījumā, jo īpaši agresīvāku audzēju apakštipu gadījumā.

Organism	Cilvēks
Tissue	Nieres
Disease	Vilmsa audzējs
Synonyms	ImWilms10 T, IM-WT-10

Raksturojums

Age	2 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Vārpstas formas
Cell type	Vilmsa šūnas

ImWilms10T elementi | 300419

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation ImWilms10T (Cytion kataloga numurs 300419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_DF34

GMO Status GMO-S1: Šis imWilms10T atvasinājums satur to pašu trīskārši mutēto SV40 T-antigēnu, kas ļauj veikt nosacītu imortalizāciju bērnu nieru audzēju bioloģijā. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Mutational profile WT1 mutācijas statuss: homozigotiska del WT1 del11p13, LOH: nav 11p13, bet UPD 11p15, CTNNB1 mutācijas statuss: homozigotiska del TCT, p.DS45, UPD 3p

Darbs ar

Culture Medium MSCGM komplekts (no Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal 1 līdz 2 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

ImWilms10T elementi | 300419

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ImWilms10T elementi | 300419

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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