

ImWilms10T Celler | 300419

Generell informasjon

Description

Cellelinjen imWilms10T er en udødeliggjort variant av Wilms10T-primærtumorcellelinjen, som ble avledet fra en Wilms-svulst (nefroblastom) fra en pediatrik pasient. Denne cellelinjen kjennetegnes av en homozygot delesjon av WT1-genet, noe som resulterer i et fullstendig tap av WT1-proteinfunksjon. WT1 er et avgjørende gen for nyreutvikling, og deletjonen i imWilms10T gjenspeiler en alvorlig genetisk forstyrrelse som er forbundet med patogenesen til Wilms-svulst. I tillegg til WT1-delesjonen har imWilms10T-celler tap av heterozygositet (LOH) i kromosomregion 11p15, som inkluderer viktige gener som IGF2, noe som bidrar til svulstens aggressive atferd.

For å overvinne Wilms10T-cellenes begrensede levetid ble imWilms10T-cellelinjen etablert ved å introdusere et trippelmutant SV40 large T-antigen (U19dl89-97tsA58) i de opprinnelige tumorcellene. Denne udødeliggjøringsprosessen gjør det mulig for imWilms10T-celler å formere seg på ubestemt tid samtidig som kromosomstabiliteten opprettholdes, noe som gir en pålitelig modell for langtidsstudier. ImWilms10T-cellene beholder de kritiske egenskapene til Wilms10T-foreldrelinjen, inkludert det fullstendige tapet av WT1 og tilstedeværelsen av LOH på 11p15, noe som gjør dem til en uvurderlig ressurs for studier av de molekylære konsekvensene av WT1-delesjon og de assosierte tumorgenetiske prosessene.

imWilms10T-celler har blitt grundig studert med tanke på deres involvering i viktige signalveier som driver tumorprogresjon. Proteomanalyser har avdekket at disse cellene viser fosforylering og aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), som IGF1R, PDGFR β og AXL. Disse aktiverte reseptorene signaliserer gjennom nedstrømsveier, inkludert MAPK- og PI3K/AKT-veiene, som er avgjørende for å opprettholde cellenes maligne fenotype. Cellelinjen imWilms10T er et viktig verktøy for å undersøke effekten av fullstendig tap av WT1 på cellulær signalering, tumorvekst og potensielle terapeutiske mål i Wilms-svulster, særlig for mer aggressive subtyper av svulster.

Organism Menneskelig

Tissue Nyre

Disease Wilms-svulst

Synonyms ImWilms10 T, IM-WT-10

Kjennetegn

Age 2 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformet

Cell type Wilms-celler

ImWilms10T Celler | 300419

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation ImWilms10T (Cytion-katalognummer 300419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_DF34

Depositor B. Royer-Pokora

GMO Status GMO-S1: Dette imWilms10T-derivatet inneholder det samme trippelmutante SV40 T-antigenet som muliggjør betinget udødeliggjøring for pediatrik nyretumorbologi. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Mutational profile WT1-mutasjonsstatus: homozygot del WT1 innenfor del11p13, LOH: ingen i 11p13, men UPD i 11p15, CTNNB1-mutasjonsstatus: homozygot del TCT, p.DS45, UPD 3p

Håndtering

Culture Medium MSCGM-sett (fra Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Fluid renewal 1 til 2 ganger per uke

ImWilms10T Celler | 300419

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

ImWilms10T Celler | 300419**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,12
D16S539: 9,10
D5S818: 10,12
D7S820: 11,12
TH01: 8,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,18
D3S1358: 17,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,16
Penta E: 7,10
Penta D: 10,13
D8S1179: 10,15
FGA: 22,24

HLA-alleler

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