

ImWilms10T Cells | 300419

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa imWilms10T jest immortalizowanym wariantem linii komórkowej guza pierwotnego Wilms10T, która została uzyskana z próbki guza Wilmsa (nefroblastoma) u pacjenta pediatrycznego. Ta linia komórkowa wyróżnia się homozygotyczną delecją genu WT1, co skutkuje całkowitą utratą funkcji białka WT1. WT1 jest kluczowym genem dla rozwoju nerek, a jego delecja w imWilms10T odzwierciedla poważne zaburzenie genetyczne, które jest związane z patogenezą guza Wilmsa. Oprócz delecji WT1, komórki imWilms10T wykazują utratę heterozygotyczności (LOH) w regionie chromosomalnym 11p15, który obejmuje kluczowe geny, takie jak IGF2, przyczyniając się do agresywnego zachowania guza.

Aby przezwyciężyć ograniczoną żywotność komórek Wilms10T, utworzono linię komórkową imWilms10T poprzez wprowadzenie potrójnie zmutowanego antygeny SV40 large T (U19dl89-97tsA58) do oryginalnych komórek nowotworowych. Ten proces immortalizacji umożliwia komórkom imWilms10T proliferację w nieskończoność przy jednoczesnym zachowaniu stabilności chromosomalnej, zapewniając w ten sposób niezawodny model do badań długoterminowych. Komórki imWilms10T zachowują krytyczne cechy rodzicielskiej linii Wilms10T, w tym całkowitą utratę WT1 i obecność LOH w 11p15, co czyni je nieocenionym źródłem do badania molekularnych konsekwencji delecji WT1 i związanych z nią procesów nowotworowych.

komórki imWilms10T były intensywnie badane pod kątem ich zaangażowania w kluczowe szlaki sygnałowe, które napędzają progresję nowotworu. Analizy proteomiczne ujawniły, że komórki te wykazują fosforylację i aktywację kilku receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK), takich jak IGF1R, PDGFRβ i AXL. Te aktywowane receptory sygnalizują poprzez dalsze szlaki, w tym szlaki MAPK i PI3K/AKT, które są kluczowe dla utrzymania złośliwego fenotypu komórek. Linia komórkowa imWilms10T służy jako ważne narzędzie do badania wpływu całkowitej utraty WT1 na sygnalizację komórkową, wzrost guza i potencjalne cele terapeutyczne w guzie Wilmsa, szczególnie w przypadku bardziej agresywnych podtypów guza.

Organism Człowiek

Tissue Nerka

Disease Guz Wilmsa

Synonyms ImWilms10 T, IM-WT-10

Charakterystyka

Age 2 lata

Gender Kobieta

Ethnicity Kaukaski

Morphology Wrzecionowaty kształt

ImWilms10T Cells | 300419**Cell type** Komórki Wilmsa**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** ImWilms10T (numer katalogowy Cytion 300419)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DF34**Depositor** B. Royer-Pokora**GMO Status** GMO-S1: Ta pochodna imWilms10T zawiera ten sam potrójnie zmutowany antygen SV40 T umożliwiający warunkową immortalizację w biologii nowotworów nerek u dzieci. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Mutational profile** Status mutacji WT1: homozygotyczna del WT1 w del11p13, LOH: brak w 11p13, ale UPD w 11p15, status mutacji CTNNB1: homozygotyczna del TCT, p.DS45, UPD 3p**Obsługa****Culture Medium** Zestaw MSCGM (od Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Fluid renewal** 1 do 2 razy w tygodniu

ImWilms10T Cells | 300419

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

ImWilms10T Cells | 300419

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

ImWilms10T Cells | 300419

Allele 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