

Celule Wilms10T | 300417

Informații generale

Description

Linia celulară Wilms10T a fost obținută dintr-un eșantion primar de tumoră Wilms obținut de la un pacient cu tumoră Wilms, un nefroblastom pediatric. Această linie celulară se caracterizează printr-o deleție homozigotă a genei WT1, ceea ce duce la o pierdere completă a funcției WT1, o genă esențială implicată în dezvoltarea rinichilor și menținerea diferențierii renale normale. Spre deosebire de multe alte linii celulare ale tumorii Wilms, Wilms10T nu are nicio expresie a proteinei WT1, ceea ce reflectă alterările genetice severe prezente în acest subtip tumoral. În plus, linia celulară Wilms10T prezintă pierdere de heterozigoție (LOH) în regiunea cromozomială 11p15, care include gene importante precum IGF2, contribuind în continuare la proprietățile sale tumorigene.

Celulele Wilms10T au un cariotip normal stabil, fără rearanjamente cromozomiale majore în afară de deleția specifică a regiunii WT1. Această linie celulară a fost utilizată pe scară largă pentru a studia efectele pierderii complete a WT1 asupra biologiei tumorale, inclusiv impactul acesteia asupra proliferării celulare, diferențierii și răspunsului la diferite căi de semnalizare. Celulele păstrează caracteristici mezenchimale, exprimând markeri precum vimentina, în timp ce le lipsesc markeri epiteliali precum citokeratina, ceea ce indică originea lor stromală.

Cercetări semnificative s-au axat pe căile de semnalizare active în celulele Wilms10T. Studiile proteomice au demonstrat că aceste celule prezintă activarea mai multor receptoare tirozin kinazice (RTK), cum ar fi IGF1R, PDGFRβ și AXL, care sunt cunoscute pentru a determina tumorigeneza. În plus, căile de semnalizare din aval, inclusiv căile MAPK și PI3K/AKT, sunt activate în celulele Wilms10T, contribuind la fenotipul lor tumoral agresiv. Caracterizarea cuprinzătoare a Wilms10T face din aceasta un model valoros pentru investigarea fundamentelor moleculare ale tumorii Wilms cu pierdere completă a WT1, precum și pentru explorarea potențialelor ținte terapeutice în acest subtip tumoral agresiv.

Organism Om

Tissue Rinichi

Disease Tumora Wilms

Applications Model de cultură celulară in vitro și studii biochimice

Synonyms Wilms10

Caracteristici

Age 2 ani

Gender Femei

Ethnicity Caucazian

Celule Wilms10T | 300417**Morphology** În formă de fus**Cell type** Celule Wilms**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** Wilms10T (număr de catalog Cytion 300417)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Date biomoleculare****Mutational profile** Statutul mutației WT1: homozigot del WT1 în del11p13. LOH: nu în 11p13, dar UPD în 11p15. Statutul mutației CTNNB1: homozigot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Manipulare****Culture Medium** Kit MSCGM (de la Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 46 de ore**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density** 4×10^4 celule/cm²

Celule Wilms10T | 300417**Fluid renewal** 1 până la 2 ori pe săptămână**Freeze medium**

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.**Flask Coating**

Niciuna

Freezing Procedure

Linile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule Wilms10T | 300417

Shipping Conditions

Liniiile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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