

Bunky ImWilms10T | 300419**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia imWilms10T je immortalizovaný variant primárnej nádorovej bunkovej línie Wilms10T, ktorá bola odvodená zo vzorky Wilmsovho nádoru (nefroblastómu) u detského pacienta. Táto bunková línia sa vyznačuje homozygotnou deléciou génu WT1, čo vedie k úplnej strate funkcie proteínu WT1. WT1 je kľúčový gén pre vývoj obličiek a jeho delécia v imWilms10T odráža závažnú genetickú poruchu, ktorá súvisí s patogenézou Wilmsovho nádoru. Okrem delécie WT1 vykazujú bunky imWilms10T stratu heterozygotity (LOH) v chromozómovej oblasti 11p15, ktorá zahŕňa kľúčové gény, ako je IGF2, čo prispieva k agresívnemu správaniu nádoru.

Na prekonanie obmedzenej životnosti buniek Wilms10T bola vytvorená bunková línia imWilms10T zavedením trojnásobne mutovaného veľkého antigénu SV40 T (U19d189-97tsA58) do pôvodných nádorových buniek. Tento proces immortalizácie umožňuje bunkám imWilms10T množiť sa neobmedzene dlho pri zachovaní chromozómovej stability, čím sa poskytuje spoľahlivý model na dlhodobé štúdie. Bunky imWilms10T si zachovávajú kritické vlastnosti rodičovskej línie Wilms10T vrátane úplnej straty WT1 a prítomnosti LOH v 11p15, čo z nich robí neoceniteľný zdroj na štúdium molekulárnych dôsledkov delecie WT1 a súvisiacich nádorových procesov.

bunky imWilms10T boli podrobne skúmané z hľadiska ich zapojenia do kľúčových signálnych dráh, ktoré podporujú progresiu nádorov. Proteomické analýzy odhalili, že tieto bunky vykazujú fosforyláciu a aktiváciu niekoľkých receptorových tyrozínkináz (RTK), ako sú IGF1R, PDGFR β a AXL. Tieto aktivované receptory signalizujú prostredníctvom nadväzujúcich dráh vrátane dráh MAPK a PI3K/AKT, ktoré sú rozhodujúce pre udržanie malígneho fenotypu buniek. Bunková línia imWilms10T slúži ako dôležitý nástroj na skúmanie vplyvu úplnej straty WT1 na bunkovú signalizáciu, rast nádoru a potenciálne terapeutické ciele pri Wilmsovom nádore, najmä pri agresívnejších podtypoch nádoru.

Organism Ľudské**Tissue** Obličky**Disease** Wilmsov nádor**Synonyms** ImWilms10 T, IM-WT-10**Charakteristika****Age** 2 roky**Gender** Ženy**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Vreteno v tvare vretena**Cell type** Wilmsove bunky

Bunky ImWilms10T | 300419

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation ImWilms10T (katalógové číslo Cytion 300419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_DF34

GMO Status GMO-S1: Tento derivát imWilms10T obsahuje rovnaký trojnásobne mutovaný T-antigén SV40, ktorý umožňuje podmienenú imortalizáciu pre biológiu nádorov detských obličiek. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Mutational profile Stav mutácie WT1: homozygotná del WT1 v rámci del11p13, LOH: nie v 11p13, ale UPD v 11p15, stav mutácie CTNNB1: homozygotná del TCT, p.DS45, UPD 3p

Spracovanie

Culture Medium Súprava MSCGM (od spoločnosti Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Fluid renewal 1 až 2-krát týždenne

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky ImWilms10T | 300419**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky ImWilms10T | 300419

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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