

Celice ImWilms10T | 300419

Splošne informacije

Description

Celična linija imWilms10T je immortalizirana različica primarne tumorske celične linije Wilms10T, ki je bila pridobljena iz vzorca Wilmsovega tumorja (nefroblastoma) pri pediatričnem bolniku. To celično linijo odlikuje homozigotna delecija gena WT1, ki povzroči popolno izgubo funkcije proteina WT1. Gen WT1 je ključnega pomena za razvoj ledvic, njegov izbris v imWilms10T pa odraža hudo genetsko motnjo, ki je povezana s patogenezo tumorja Wilms. Poleg delecije WT1 imajo celice imWilms10T izgubo heterozigotnosti (LOH) v kromosomski regiji 11p15, ki vključuje ključne gene, kot je IGF2, kar prispeva k agresivnosti tumorja.

Da bi premagali omejeno življenjsko dobo celic Wilms10T, je bila celična linija imWilms10T vzpostavljena z vnosom trojnega mutantnega antigena SV40 large T (U19dl89-97tsA58) v prvotne tumorske celice. Ta postopek immortalizacije omogoča celicam imWilms10T neomejeno razmnoževanje ob ohranjanju kromosomske stabilnosti, kar zagotavlja zanesljiv model za dolgoročne študije. Celice imWilms10T ohranijo kritične značilnosti starševske linije Wilms10T, vključno s popolno izgubo WT1 in prisotnostjo LOH na 11p15, zato so neprecenljiv vir za preučevanje molekularnih posledic delecije WT1 in z njo povezanih tumorigenih procesov.

celice imWilms10T so obsežno preučevali zaradi njihove vpletenosti v ključne signalne poti, ki spodbujajo napredovanje tumorjev. Proteomske analize so pokazale, da te celice kažejo fosforilacijo in aktivacijo več receptorskih tirozinskih kinaz (RTK), kot so IGF1R, PDGFR β in AXL. Ti aktivirani receptorji signalizirajo po nadaljnjih poteh, vključno s potmi MAPK in PI3K/AKT, ki so ključne za ohranjanje malignega fenotipa celic. Celična linija imWilms10T je pomembno orodje za raziskovanje vpliva popolne izgube WT1 na celično signalizacijo, rast tumorja in potencialne terapevtske cilje pri Wilmsovem tumorju, zlasti pri agresivnejših podtipih tumorjev.

Organism	Človek
Tissue	Ledvice
Disease	Wilmsov tumor
Synonyms	ImWilms10 T, IM-WT-10

Značilnosti

Age	2 leti
Gender	Ženske
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Vretenasta oblika
Cell type	Wilmsove celice

Celice ImWilms10T | 300419

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation ImWilms10T (Cytionova kataloška številka 300419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_DF34

GMO Status GSO-S1: Ta derivat imWilms10T vsebuje isti trojni mutantni T-antigen SV40, ki omogoča pogojno immortalizacijo za pediatrično biologijo tumorjev ledvic. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Mutational profile Status mutacije WT1: homozigotna del WT1 znotraj del11p13, LOH: ni v 11p13, vendar UPD v 11p15, status mutacije CTNNB1: homozigotna del TCT, p.DS45, UPD 3p

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium Komplet MSCGM (Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Fluid renewal 1 do 2-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice ImWilms10T | 300419

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice ImWilms10T | 300419

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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