

Celice Wilms10T | 300417

Splošne informacije

Description

Celična linija Wilms10T je bila pridobljena iz primarnega vzorca Wilmsovega tumorja, pridobljenega od bolnika z Wilmsovim tumorjem, pediatričnim nefroblastomom. Za to celično linijo je značilna homozigotna delecija gena WT1, ki povzroči popolno izgubo funkcije WT1, ključnega gena, vključenega v razvoj ledvic in vzdrževanje normalne diferenciacije ledvic. Za razliko od številnih drugih celičnih linij Wilmsovega tumorja Wilms10T ne izraža beljakovin WT1, kar odraža hude genetske spremembe, prisotne v tem podtipu tumorja. Poleg tega ima celična linija Wilms10T izgubo heterozigotnosti (LOH) v kromosomski regiji 11p15, ki vključuje pomembne gene, kot je IGF2, kar še dodatno prispeva k njenim tumorskim lastnostim.

Celice Wilms10T imajo stabilen normalen kariotip brez večjih kromosomskih preureditev, razen specifične delecije regije WT1. Ta celična linija je bila obsežno uporabljena za preučevanje učinkov popolne izgube WT1 na tumorsko biologijo, vključno z njenim vplivom na proliferacijo, diferenciacijo in odziv na različne signalne poti. Celice ohranjajo mezenhimske značilnosti in izražajo označevalce, kot je vimentin, nimajo pa epiteljskih označevalcev, kot je citokeratin, kar kaže na njihov stromalni izvor.

Pomembne raziskave so se osredotočile na signalne poti, ki delujejo v celicah Wilms10T. Proteomske študije so pokazale, da te celice aktivirajo več receptorskih tirozin kinaz (RTK), kot so IGF1R, PDGFR β in AXL, za katere je znano, da spodbujajo tumorigenezo. Poleg tega se v celicah Wilms10T aktivirajo signalne poti, vključno s potmi MAPK in PI3K/AKT, kar prispeva k njihovemu agresivnemu tumorskemu fenotipu. Zaradi izčrpne karakteristike je Wilms10T dragocen model za raziskovanje molekularnih osnov tumorja Wilms s popolno izgubo WT1 in za raziskovanje potencialnih terapevtskih ciljev pri tem agresivnem podtipu tumorja.

Organism	Človek
Tissue	Ledvice
Disease	Wilmsov tumor
Applications	In vitro model celične kulture in biokemične študije
Synonyms	Wilms10

Značilnosti

Age	2 leti
Gender	Ženske
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Vretenasta oblika

Celice Wilms10T | 300417**Cell type** Wilmsove celice**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** Wilms10T (katalogška številka Cytion 300417)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Biomolekularni podatki****Mutational profile** Mutacijski status WT1: homozigotna del WT1 znotraj del11p13. LOH: ni v 11p13, vendar UPD v 11p15. status mutacije CTNNB1: homozigotni del TCT, p.DS45, UPD 3p**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** Komplet MSCGM (Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 46 ur**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.**Seeding density** 4×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 1 do 2-krat na teden

Celice Wilms10T | 300417

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, povzročenga s kriom.

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 kriovial 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 kriovial 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.

Celice Wilms10T | 300417

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 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo 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 izključuje 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