

ImWilms10T Hücreleri | 300419

Genel bilgi

Description

ImWilms10T hücre hattı, bir pediatrik hastadaki Wilms tümörü (nefroblastom) örneğinden türetilen Wilms10T primer tümör hücre hattının ölümsüzleştirilmiş bir varyantıdır. Bu hücre hattı, WT1 geninin homozigot delesyonu ile ayırt edilir ve WT1 protein fonksiyonunun tamamen kaybına neden olur. WT1, böbrek gelişimi için çok önemli bir genidir ve imWilms10T'deki delesyonu, Wilms tümörünün patogeneziyle ilişkili ciddi bir genetik bozulmayı yansıtır. WT1 delesyonuna ek olarak, imWilms10T hücreleri, tümörün agresif davranışına katkıda bulunan IGF2 gibi anahtar genleri içeren 11p15 kromozomal bölgesinde heterozigotluk kaybı (LOH) sergiler.

Wilms10T hücrelerinin sınırlı ömrünün üstesinden gelmek için, orijinal tümör hücrelerine üçlü mutant SV40 büyük T antijeni (U19dl89-97tsA58) eklenerek imWilms10T hücre hattı oluşturulmuştur. Bu ölümsüzleştirme süreci, imWilms10T hücrelerinin kromozomal stabiliteyi korurken süresiz olarak çoğalmasını sağlar ve böylece uzun vadeli çalışmalar için güvenilir bir model sunar. ImWilms10T hücreleri, WT1'in tamamen kaybı ve 11p15'te LOH varlığı da dahil olmak üzere ebeveyn Wilms10T hattının kritik özelliklerini korumakta, bu da onları WT1 delesyonunun moleküler sonuçlarını ve ilişkili tümörjenik süreçleri incelemek için paha biçilmez bir kaynak haline getirmektedir.

imWilms10T hücreleri, tümör ilerlemesini yönlendiren temel sinyal yollarına katılımları açısından kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Proteomik analizler, bu hücrelerin IGF1R, PDGFR β ve AXL gibi çeşitli reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) fosforilasyonunu ve aktivasyonunu sergilediğini ortaya koymuştur. Bu aktive edilmiş reseptörler, hücrelerin malign fenotipini sürdürmek için çok önemli olan MAPK ve PI3K/AKT yolları dahil olmak üzere aşağı akış yolları üzerinden sinyal verir. ImWilms10T hücre hattı, Wilms tümöründe, özellikle daha agresif tümör alt tipleri için, tam WT1 kaybının hücreler sinyalizasyon, tümör büyümesi ve potansiyel terapötik hedefler üzerindeki etkisini araştırmak için önemli bir araç olarak hizmet etmektedir.

Organism

İnsan

Tissue

Böbrek

Disease

Wilms Tümörü

Synonyms

ImWilms10 T, IM-WT-10

Özellikler

Age

2 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Kafkas

Morphology

İğ şeklinde

Cell type

Wilms hücreleri

ImWilms10T Hücreleri | 300419**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** ImWilms10T (Cytion katalog numarası 300419)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DF34**GMO Status** GMO-S1: Bu imWilms10T türevi, pediatrik böbrek tümörü biyolojisi için koşullu immortalizasyon sağlayan aynı üçlü mutant SV40 T-antijenini içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Mutational profile** WT1 mutasyon durumu: del11p13 içinde homozigot del WT1, LOH: 11p13'te yok ancak 11p15'te UPD, CTNNB1 mutasyon durumu: homozigot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Elleçleme****Culture Medium** MSCGM kiti (Lonza'dan)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 1 ila 2 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

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

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

ImWilms10T Hücreleri | 300419

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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