Product sheet

Клітини ImWilms10T | 300419

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія imWilms10T - це імортализований варіант лінії клітин первинної пухлини Wilms10T, яка була отримана зі зразка пухлини Вільмса (нефробластоми) у педіатричного пацієнта. Ця клітинна лінія відрізняється гомозиготною делецією гена WT1, що призводить до повної втрати функції білка WT1. WT1 є критично важливим геном для розвитку нирок, і його делеція в imWilms10T відображає важке генетичне порушення, яке пов'язане з патогенезом пухлини Вільмса. На додаток до делеції WT1, клітини imWilms10T демонструють втрату гетерозиготності (LOH) у хромосомній ділянці 11p15, яка включає ключові гени, такі як IGF2, що сприяє агресивній поведінці пухлини. Щоб подолати обмежену тривалість життя клітин Wilms10T, була створена клітинна лінія imWilms10T шляхом введення потрійного мутантного великого Т-антигену SV40 (U19dl89-97tsA58) у вихідні пухлинні клітини. Цей процес іммортализації дозволяє клітинам imWilms10T проліферувати нескінченно довго, зберігаючи хромосомну стабільність, забезпечуючи тим самим надійну модель для довгострокових досліджень. Клітини imWilms10T зберігають критичні характеристики батьківської лінії Wilms10T, включаючи повну втрату WT1 і наявність LOH в 11p15, що робить їх безцінним ресурсом для вивчення молекулярних наслідків делеції WT1 і пов'язаних з нею пухлинних процесів. клітини imWilms10T інтенсивно вивчаються на предмет їх участі в ключових сигнальних шляхах, що визначають пухлинну прогресію. Протеомний аналіз показав, що в цих клітинах відбувається фосфорилювання та активація декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), таких як IGF1R, PDGFRβ та AXL. Ці активовані рецептори передають сигнали через наступні шляхи, включаючи MAPK і PI3K/AKT, які мають вирішальне значення для підтримки злоякісного фенотипу клітин. Клітинна лінія imWilms10T слугує важливим інструментом для дослідження впливу повної втрати WT1 на клітинну сигналізацію, ріст пухлини та потенційні терапевтичні мішені при пухлині Вільмса, особливо для більш агресивних підтипів пухлин.
Organism	Людина
Tissue	Нирка
Disease	Пухлина Вільмса
Synonyms	ImWilms10 T, IM-WT-10

Характеристики

Age	2 роки
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Веретеноподібна форма

Клітини ImWilms10T | 300419

Cell type	Клітини Вільмса
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	ImWilms10T (номер за каталогом Cytion 300419)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_DF34
GMO Status	ГМО-S1: Це похідне imWilms10T містить той самий потрійний мутантний Т-антиген SV40, що дозволяє умовну іммортализацію для біології пухлин нирок у дітей. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Mutational profile	Статус мутації WT1: гомозиготний del WT1 в межах del11p13, LOH: немає в 11p13, але UPD в 11p15, статус мутації CTNNB1: гомозиготний del TCT, p.DS45, UPD 3p

Обробка

Culture Medium	Комплект MSCGM (від Lonza)
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Fluid renewal	1-2 рази на тиждень

Клітини ImWilms10T | 300419

Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні

Клітини ImWilms10T | 300419

Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**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