

Клітини ImWilms10T | 300419

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія imWilms10T - це іморталізований 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. Окрім делеції WT1, клітини imWilms10T демонструють втрату гетерозиготності (LOH) у хромосомній ділянці 11p15, яка включає ключові гени, такі як IGF2, що сприяє агресивній поведінці пухлини.

Для подолання обмеженої тривалості життя клітин Wilms10T була створена клітинна лінія imWilms10T шляхом введення потрібного мутантного великого Т-антигену SV40 (U19dl89-97tsA58) у вихідні пухлинні клітини. Цей процес іморталізації дозволяє клітинам imWilms10T проліферувати нескінченно довго, зберігаючи хромосому стабільність, що забезпечує 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 фосфорилування та активація декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), таких як IGF1R, PDGFR β 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 потрібний мутантний Т-антиген SV40, що дозволяє умовну іморталізацію 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 300хg 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 криоконсервування 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, зануливши 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини ImWilms10T | 300419

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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 перевірній 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.

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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового 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