

Клітини Wilms10T | 300417

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія Wilms10T була отримана з первинного зразка пухлини Вільмса, отриманого від пацієнта з пухлиною Вільмса, дитячою нефробластою. Ця клітинна лінія характеризується гомозиготною делецією гена WT1, що призводить до повної втрати функції WT1, критично важливого гена, який бере участь у розвитку нирок і підтримці нормальної ниркової диференціації. На відміну від багатьох інших клітинних ліній пухлини Вільмса, у лінії Wilms10T відсутня експресія білка WT1, що свідчить про серйозні генетичні зміни, притаманні цьому підтипу пухлини. Крім того, клітини лінії Wilms10T демонструють втрату гетерозиготності (LOH) в області 11p15 хромосоми, яка включає важливі гени, такі як IGF2, що ще більше посилює її пухлинні властивості.

Клітини Wilms10T мають стабільний нормальний каріотип без значних хромосомних перебудов, окрім специфічної делеції області WT1. Ця клітинна лінія широко використовується для вивчення впливу повної втрати WT1 на біологію пухлин, включаючи її вплив на проліферацію, диференціацію та відповідь на різні сигнальні шляхи. Клітини зберігають мезенхімальні характеристики, експресуючи такі маркери, як віментин, але не мають епітеліальних маркерів, таких як цитокератин, що вказує на їхнє стромальне походження.

Значні дослідження були зосереджені на сигнальних шляхах, активних у клітинах Wilms10T. Протеомні дослідження показали, що ці клітини демонструють активацію декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), таких як IGF1R, PDGFRβ і AXL, які, як відомо, є рушійною силою пухлиноутворення. Крім того, в клітинах Wilms10T активуються наступні сигнальні шляхи, включаючи MAPK і PI3K/AKT, що сприяє формуванню агресивного пухлинного фенотипу. Всебічна характеристика клітини Wilms10T робить її цінною моделлю для дослідження молекулярних основ пухлини Вільмса з повною втратою WT1, а також для вивчення потенційних терапевтичних мішеней у цьому агресивному підтипі пухлин.

Organism Людина

Tissue Нирка

Disease Пухлина Вільмса

Applications Модель культури клітин in vitro та біохімічні дослідження

Synonyms Вільмс10

Характеристики

Age 2 роки

Gender Жінка

Ethnicity Кавказець

Клітини Wilms10T | 300417

Morphology Веретеноподібна форма

Cell type Клітини Вільмса

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation Wilms10T (номер за каталогом Cytion 300417)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SL

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

Doubling time 46 годин

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.

Seeding density 4×10^4 клітини/см²

Клітини Wilms10T | 300417**Fluid renewal** 1-2 рази на тиждень**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 потрібно 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. Дотримуйтеся 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** Ні

Клітини Wilms10T | 300417

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