

Wilms10M-solut | 300418

Yleisiä tietoja

Description

Wilms10M-solulinja perustettiin Wilmsin kasvainta (nefroblastoomaa) sairastavan potilaan metastaattisesta keuhkokoehmystä. Wilms10M-solulinjalle on ominaista, kuten sen primaarikasvaimen vastineelle, Wilms10T:lle, WT1-geenin homotsygoottinen deleetio, joka johtaa WT1-proteiinin täydelliseen puuttumiseen. WT1 on välttämätön munuaisten normaalille kehitykselle, ja sen deleetioituminen liittyy aggressiivisempaan kasvainkäyttäytymiseen, erityisesti etäpesäkkeisiin. Lisäksi Wilms10M-soluissa esiintyy heterotsygotian menetystä (LOH) kromosomialueella 11p15, joka sisältää IGF2-geenin, mikä lisää entisestään näiden solujen pahanlaatuisia ominaisuuksia.

Wilms10M-solut säilyttävät vakaan karyotyypin, jossa ei ole merkittäviä kromosomien uudelleenjärjestelyjä lukuun ottamatta WT1-alueen spesifistä deleetioitumista. Tämä metastaattisesta kudoksesta peräisin oleva solulinja on erityisen arvokas tutkittaessa molekyyli mekanismeja, jotka ohjaavat metastaasin syntymistä Wilmsin kasvaimessa. Soluilla on mesenkymaalaisia piirteitä, ja ne ilmentävät vimentiniin kaltaisia merkkiaineita, mutta niistä puuttuvat epiteelimerkkiaineet, kuten sytokeratiini, mikä viittaa siihen, että ne ovat peräisin kasvaimen stroomaalisesta komponentista.

Wilms10M-tutkimuksessa on keskitytty signaalireitteihin, jotka ovat aktiivisia näissä metastaattisissa soluissa. Proteomianalyysit ovat osoittaneet useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten IGF1R:n, PDGFRβ:n ja AXL:n, aktivoituvan, ja ne osallistuvat solujen eloonjäämiseen, lisääntymiseen ja metastaattisen potentiaalin edistämiseen. Myös MAPK- ja PI3K/AKT-signaalointireitit aktivoituvat, ja niillä on keskeinen rooli Wilms10M-solujen invasiivisen ja metastaattisen fenotyypin ylläpitämisessä. Metastaattisen alkuperänsä vuoksi Wilms10M on olennainen malli Wilmsin kasvaimen metastaasin taustalla olevien molekulaaristen tapahtumien ymmärtämiseksi ja metastaattisen taudin kohdennettujen hoitostrategioiden kehittämiseksi.

Organism Ihminen

Tissue Munuaiset

Disease Wilmsin kasvain

Applications In vitro -soluviljelymalli. Biokemialliset tutkimukset

Synonyms Wilms10

Ominaisuudet

Age 2 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Karanmuotoinen

Wilms10M-solut | 300418**Cell type** Wilmsin solut**Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot****Citation** Wilms10M (Cytionin luettelonumero 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Biomolekyyli tiedot****Mutational profile** WT1-mutaatiotilanne: homotsygoottinen del WT1 del11p13:ssa. LOH: ei 11p13:ssa, mutta UPD 11p15:ssä. CTNNB1-mutaatiotilanne: homotsygoottinen del TCT, p.DS45, UPD 3p**Käsittely****Culture Medium** MSCGM-pakkaus (Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Wilms10M-solut | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Wilms10M-solut | 300418

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.