

Wilms1-solut | 300411

Yleisiä tietoja

Description

Wilms1-solulinja on peräisin primaarisesta Wilmsin kasvainnäytteestä, joka saatiin potilaalta, jolla oli suuria molemminpuolisia munuaiskasvaimia, jotka viittaavat Wilmsin kasvaimeen, joka on pediatriinen nefroblastooma. Tässä solulinjassa on homotsygoottinen nonsense-mutaatio WT1-geenissä (c.149 C>A, p.S50X), joka johtaa tyypistettyyn ja toimimattomaan WT1-proteiiniin. WT1-geeni, joka on kriittinen munuaisten kehityksen ja toiminnan kannalta, on usein mutaantunut Wilmsin kasvaimissa, erityisesti niissä, joiden stroomaalinen alatyyppe on ektooppinen mesenkymaalinen erilaistuminen. Wilms1-solut edustavat näin ollen ainutlaatuista in vitro -mallia, jolla voidaan tutkia WT1:n toimintakyvyn menetyksen seurauksia kasvainten biologiassa.

Wilms1-solulinja säilyttää vakaan karyotyypin ilman merkittäviä kromosomipoikkeavuuksia, mikä mahdollistaa luotettavan pitkäaikaisen viljelyn. Näillä soluilla on mesenkymaalinen fenotyyppi, jolle on ominaista vimentiniin ilmentyminen ja epiteelimerkkiaineiden, kuten sytokeratiinin, puuttuminen, mikä on johdonmukaista niiden stroomaperäisyyden kanssa. Lisäksi solulinjalla on rajallinen mutta huomattava mesenkymaalinen erilaistumiskyky, mukaan lukien kyky erilaistua lihaksen kaltaisiksi soluiksi sopivissa olosuhteissa. Tämä tekee Wilms1:stä korvaamattoman arvokkaan välineen mesenkymaalisen erilaistumisen molekyylimekanismien ja sen deregulaation tutkimiseen Wilmsin kasvainten patogeneesissä.

Wilms1:n avulla on myös tutkittu kasvaimen etenemiseen osallistuvien keskeisten signaalireittien aktivoitumistilaa. Proteomianalyysit ovat osoittaneet, että Wilms1-soluissa esiintyy useiden reseptorityrosiinikinaasien, kuten EGFR:n ja PDGFRβ:n, fosforylaatioita ja aktivoitumista, samoin kuin myöhempien MAPK-signaalintireittien. Nämä havainnot korostavat Wilms1-solulinjan merkitystä tutkittaessa kohdennettuja hoitokeinoja Wilmsin kasvaimiin selvittämällä näiden reittien roolia syöpäsolujen selviytymisessä, lisääntymisessä ja erilaistumisessa.

Organism

Ihminen

Tissue

Munuaiset

Applications

In vitro -soluviljelymalli. Biokemialliset tutkimukset

Synonyms

Wilms1-2l

Ominaisuudet

Age

2 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Karanmuotoinen

Wilms1-solut | 300411

Cell type	Wilmsin solut
-----------	---------------

Growth properties	Tarttuva
-------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	Wilms1 (Cytionin luettelonumero 300411)
----------	---

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_A5SC
----------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Reseptorityrosiinikinaasit EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL
---------------------	--

Tumorigenic	Kyllä, alastomilla hiirillä. Muodostaa kasvaimen, jossa on pieniä soluja, jotka vastaavat Wilmsin kasvainta (ks. E. Kuncu Stroup 2017)
-------------	--

Viruses	HIV-1: negatiivinen, HBV: negatiivinen, HCV: negatiivinen
---------	---

Mutational profile	WT1-mutaation status: homotsygoottinen c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutaation status: heterotsygoottinen TCT>TTT, p.S45F
--------------------	---

Karyotype	46, normaali
-----------	--------------

Käsittely

Culture Medium	MSCGM-pakkaus (Lonza)
----------------	-----------------------

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Doubling time	24 tuntia
---------------	-----------

Wilms1-solut | 300411

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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 1-2 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Nopea

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.

Wilms1-solut | 300411**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 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, 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-prosenttisella 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 x 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 °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 °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 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Wilms1-solut | 300411

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 ja molekyylianalyysi

Sterility

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

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

HLA-alleelit

A*: '03:01:01, '24:02:01

B*: '35:03:01, '38:01:01

C*: '12:03:01

DRB1*: '07:01:01, '14:54:01

DQA1*: '01:04:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:03:01

DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G

E: '01:03:01, '01:03:02