

imWilms1 Solut | 300412

Yleisiä tietoja

Description

Wilms1-solulinja on alun perin peräisin primaarisesta Wilmsin kasvaimesta, joka saatiin potilaalta, jolla oli diagnosoitu suuria molemminpuolisia munuaiskasvaimia, mikä on Wilmsin kasvaimen (nefroblastooma) tyypillinen oire. Tässä solulinjassa on homotsygoottinen nonsense-mutaatio WT1-geenissä (c.149 C>A, p.S50X), joka johtaa tyypistety, toimimattoman WT1-proteiinin tuotantoon. WT1 on kriittinen geeni munuaisten kehityksessä, ja sen mutaatio liittyy läheisesti Wilmsin kasvaimen patogeneesiin, erityisesti kasvaimissa, joilla on stroomaalinen erilaistuminen. Wilms1-soluilla on vakaa karyotyyppi ilman merkittäviä kromosomipoikkeavuuksia, ja niille on ominaista mesenkymaalinen fenotyyppi, joka ilmentää vimentiniä, mutta josta puuttuvat epiteelin merkkiaineet, kuten sytokeratiini. Linjalla on rajallinen mutta merkittävä kyky mesenkymaaliseen erilaistumiseen, mukaan lukien mahdollisuus erilaistua lihaksen kaltaisiksi soluiksi tietyissä olosuhteissa, mikä tekee siitä ratkaisevan tärkeän mallin WT1-mutaatioiden molekulaaristen seurausten tutkimiseen.

Primaaristen Wilms1-solujen rajallisen eliniän voittamiseksi perustettiin imWilms1-solulinja tuomalla alkuperäisiin kasvainsoluihin kolminkertainen mutantti SV40 large T -antigeeni (U19dl89-97tsA58), joka helpottaa niiden kuolemattomuutta. Tämän muutoksen ansiosta imWilms1-solut voivat lisääntyä loputtomiin säilyttäen kromosomistabiilisuuden, mikä tarjoaa luotettavan mallin pitkäaikaisia tutkimuksia varten. Immortalisoiduissa imWilms1-soluissa on edelleen sama WT1-mutaatio, ja ne säilyttävät vanhemman Wilms1-linjan mesenkymaaliset ominaisuudet.

Geneettisten ja fenotyyppisten ominaisuuksien lisäksi imWilms1-solulinjaa on analysoitu laajasti sen signaalireittien aktiivisuuden osalta. Proteomitutkimukset ovat paljastaneet useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten EGFR:n, PDGFRβ:n ja AXL:n, fosforylaation ja aktivoitumisen sekä MAPK-signalointireittien aktivoitumisen. Näiden reittien johdonmukainen aktivoituminen imWilms1-soluissa korostaa niiden merkitystä Wilmsin kasvaimen kohdennettujen hoitostrategioiden tutkimisessa. Kaiken kaikkiaan imWilms1 toimii vankkana ja pitkäaikaisena mallina Wilmsin kasvaimen kehittymisen ja etenemisen taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen, erityisesti WT1-mutaatioiden ja poikkeavien signaalireittien ohjaamien mekanismien.

Organism Ihminen

Tissue Munuaiset

Disease Wilmsin kasvain

Synonyms IM-WT-1

Ominaisuudet

Age 10 kuukautta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

imWilms1 Solut | 300412

Morphology Karanmuotoinen

Cell type Wilmsin solut

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation imWilms1 (Cytionin luettelonumero 300412)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SN

GMO Status GMO-S1: Tämä imWilms1-ihmisen Wilmsin kasvainlinja sisältää kolminkertaisesti mutantti SV40 T-antigeenikasetin, joka mahdollistaa ehdollisen kuolemattomuuden nefroblastoomatutkimusta varten. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyylytiedot

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

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.

imWilms1 Solut | 300412

Fluid renewal 1-2 kertaa viikossa

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa 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 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 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

imWilms1 Solut | 300412

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä 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**

Mykoplasmaakontaminaatio 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