

Wilms2-solut | 300413

Yleisiä tietoja

Description

Wilms2-solulinja on peräisin pediatriksen potilaan primaarisesta Wilmsin kasvaimesta, jolla on WT1-alkion mutaatio. Tälle solulinjalle on ominaista homotsygoottinen nonsense-mutaatio WT1-geenissä (c.1084 C>T, p.R362X), joka johtaa tyypistetyn, ei-toiminnallisen WT1-proteiinin tuotantoon. Munuaisten kehitykselle välttämättömän WT1-geenin menetys on tunnusomaista tietyille Wilmsin kasvaimen alatyypeille, erityisesti niille, jotka liittyvät mesenkymaaliseen tai stroomaaliseen erilaistumiseen. Wilms2-solulinja on merkittävä malli WT1:n menetyksen aiheuttamien kasvainten syntyprosessien tutkimiseen, erityisesti sellaisten Wilms-kasvainten yhteydessä, joissa on jäljellä muita kriittisiä geneettisiä ominaisuuksia.

Wilms2-soluissa on mutaatioita myös CTNNB1-geenissä, joka koodaa β -kateniinia, joka on Wnt-signalointireitin keskeinen komponentti. Nämä mutaatiot, jotka vaikuttavat erityisesti seriini 45:een, johtavat β -kateniinin stabiloitumiseen ja kertymiseen, mikä johtaa Wnt-reitin konstitutiiviseen aktivoitumiseen. Tämä aktivaatio on tunnetusti Wilmsin kasvaimen solujen lisääntymisen ja kasvainten synnyn ajuri, minkä vuoksi Wilms2 on arvokas malli sen ymmärtämiseksi, miten poikkeava Wnt-signalointi vaikuttaa kasvainten kehittymiseen ja etenemiseen, joissa on WT1-mutaatioita.

Fenotyybiltään Wilms2:n solut ovat mesenkymaalisen morfologian kaltaisia, ne ilmentävät vimentiniä ja niistä puuttuvat epiteelin merkkiaineet, kuten sytokeratiini. Tämä vastaa kasvaimen stroomaattisia ominaisuuksia ja korostaa WT1:n roolia mesenkymaalisen ja epiteelin välisten siirtymien säätelyssä munuaisten kehityksen aikana. Wilms2:n proteomianalyseissä on havaittu useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten PDGFR β :n ja AXL:n, aktivoituminen, joiden tiedetään tukevan kasvainsolujen selviytymistä ja lisääntymistä. Lisäksi myös MAPK:n ja PI3K/AKT:n kaltaiset jatkoketjureitit aktivoituvat, mikä edistää entisestään Wilms2-solujen pahanlaatuisia ominaisuuksia.

Kaiken kaikkiaan Wilms2-solulinja toimii olennaisena välineenä WT1:n menetyksen ja poikkeavan Wnt-signalisaation aiheuttaman Wilmsin kasvaimen molekyylimekanismien tutkimisessa. Sen geneettiset ja fenotyyppiset ominaisuudet tarjoavat vankan alustan mahdollisten terapeuttisten kohteiden tutkimiseen ja keskeisten signaalireittien roolin ymmärtämiseen sellaisten Wilmsin kasvainten patologiassa, joilla on mesenkymaalinen komponentti.

Organism Ihminen

Tissue Munuaiset

Disease Wilmsin kasvain

Applications In vitro -soluviljelymalli. Biokemialliset tutkimukset

Ominaisuudet

Age 1 vuosi

Gender Mies

Wilms2-solut | 300413

Ethnicity Kaukasialainen**Morphology** Karanmuotoinen**Cell type** Wilmsin solut**Growth properties** Tarttuva

Säätelytiedot

Citation Wilms2 (Cytionin luettelonumero 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SE

Biomolekyylitiedot

Mutational profile WT1-mutaation status: homotsygoottinen c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutaation status: heterotsygoottinen del TCT>TAT, p.S45Y

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.

Wilms2-solut | 300413**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

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.

Wilms2-solut | 300413

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.

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

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

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

HLA-alleelit

A*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '15:01:01, '57:01:01
C*: '03:03:01, '07:01:01
DRB1*: '04:01:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '03:03:02
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01, '01:03:02