

Wilms8-solut | 300416

Yleisiä tietoja

Description

Wilms8-solulinja on peräisin primaarisesta Wilmsin kasvaimesta, joka on peräisin lapsipotilaalta, jolla on WT1-mutaatio. Tälle solulinjalle on ominaista homotsygoottinen nonsense-mutaatio WT1-geenissä (c.1168 C>T, p.R390X), joka johtaa WT1:n toiminnan täydelliseen menetykseen. WT1 on ratkaisevan tärkeä munuaisten normaalin kehityksen kannalta, ja sen inaktivoituminen on yleinen piirre tietyissä Wilmsin kasvaimen aggressiivisissa alatyypeissä, erityisesti niissä, joissa esiintyy mesenkymaalista erilaistumista. Wilms8 tarjoaa näin ollen arvokkaan mallin, jonka avulla voidaan tutkia WT1:n menetyksen vaikutuksia kasvainten syntyyn, erityisesti sellaisten Wilms-kasvainten yhteydessä, joissa on voimakas stroomakomponentti.

WT1-mutaation lisäksi Wilms8-soluissa on mutaatio CTNNB1-geenissä (p.S45A), joka koodaa β -kateniinia, joka on keskeinen Wnt-signaalintireitin säätelijä. Mutaatio seriini 45:ssä häiritsee normaalia fosforylaatioprosessia, joka johtaa β -kateniinin hajoamiseen, ja aiheuttaa sen stabiloitumisen ja kertymisen tumaan. Tämä johtaa Wnt-signaalin konstitutiiviseen aktivoitumiseen, mikä edistää solujen lisääntymistä ja vaikuttaa osaltaan Wilms8-solulinjan onkogeeneisiin ominaisuuksiin. WT1:n menetyksen ja poikkeavan Wnt-signalisaation välinen vuorovaikutus Wilms8:ssa tekee siitä ratkaisevan tärkeän mallin näiden reittien taustalla olevien molekyylimekanismien ymmärtämiseksi Wilmsin kasvainten biologiassa.

Wilms8-soluilla on mesenkymaalinen fenotyyppi, jolle on ominaista vimentiniin ilmentyminen ja epiteelin merkkiaineiden, kuten sytokeratiinin, puuttuminen. Tämä vastaa alkuperäisessä kasvaimessa havaittua stroomaalista erilaistumista. Solut osoittavat rajoitettua kykyä edetä mesenkymaalisessa erilaistumisessa, kuten muodostaa lihaksen kaltaisia soluja tietyissä olosuhteissa. Wilms8:n proteomianalyysit ovat paljastaneet useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten PDGFR β :n ja AXL:n, aktivoituneen, ja ne osallistuvat keskeisiin prosesseihin, kuten solujen eloonjäämiseen, migraatioon ja proliferaatioon. Seuraavien signaalireittien, erityisesti MAPK- ja PI3K/AKT-reittien, aktivoituminen vaikuttaa edelleen Wilms8-solujen aggressiivisiin ominaisuuksiin.

Kaiken kaikkiaan Wilms8-solulinja toimii olennaisena välineenä WT1:n menetyksen ja poikkeavan Wnt-signalisaation aiheuttaman Wilms-kasvaimen molekulaarisen perustan tutkimisessa. Sen geneettiset ja fenotyyppiset ominaisuudet tekevät siitä vankan alustan näiden kriittisten reittien välisen vuorovaikutuksen tutkimiseen ja mahdollisten terapeuttien kohteiden tunnistamiseen Wilmsin kasvaimissa, joissa on stroomakomponentti.

Organism Ihminen

Tissue Munuaiset

Disease Wilmsin kasvain

Applications In vitro -soluviljelymalli. Biokemialliset tutkimukset

Ominaisuudet

Age 8 kuukautta

Gender Mies

Wilms8-solut | 300416

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

Säätelytiedot

Citation Wilms8 (Cytionin luettelonumero 300416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SJ

Biomolekyyli tiedot

Mutational profile WT1-mutaation tila: homotsygoottinen c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1-mutaation tila: heterotsygoottinen TCT>GCT, p.S45A

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.

Wilms8-solut | 300416

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.

Wilms8-solut | 300416

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä 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 määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

HLA-alleelit

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

B*: '15:01:01, '37:01:01

C*: '04:01:01, '06:02:01

DRB1*: '08:01:01G, '11:01:01

DQA1*: '04:01:01, '05:05:01

DQB1*: '03:01:01, '04:02:01

DPB1*: '03:01:01, '06:01:01

E: '01:03:02