

Wilms1 sejtek | 300411

Általános információk

Description

A Wilms1 sejtvonal egy olyan betegből származó primer Wilms-tumor mintából származik, akinek nagy kétoldali vesetumorai voltak, ami a gyermekkori nefroblastómára, a Wilms-tumorra utal. Ez a sejtvonal homozigóta nonszensz mutációt hordoz a WT1 génben (c.149 C>A, p.S50X), amely csonka és nem funkcionális WT1 fehérjét eredményez. A WT1 gén, amely kritikus a vese fejlődése és működése szempontjából, gyakran mutálódik a Wilms-tumorban, különösen azokban a stromális altípusokban, amelyek ektopikus mesenchymális differenciálódást mutatnak. A Wilms1 sejtek ezért egyedülálló in vitro modellt jelentenek a WT1 funkcióvesztésének tumorbiológiai következményeinek tanulmányozására.

A Wilms1 sejtvonal stabil kariotípust tart fenn, jelentős kromoszóma-rendellenességek nélkül, ami megbízható hosszú távú tenyésztést tesz lehetővé. Ezek a sejtek mesenchymális fenotípust mutatnak, amelyet a vimentin expressziója és az epithelialis markerek, például a citokeratin hiánya jellemez, ami összhangban van a stromális eredetükkel. Ezen túlmenően a sejtvonal korlátozott, de figyelemre méltó mesenchymális differenciálódási képességet mutat, beleértve azt a képességet, hogy megfelelő körülmények között izomszerű sejtekké differenciálódjon. Ez teszi a Wilms1-et felbecsülhetetlen értékű eszközzé a mesenchymális differenciálódás molekuláris mechanizmusainak és a Wilms-tumor patogenezisében bekövetkező deregulációjának vizsgálatához.

A Wilms1-et a tumor progressziójában szerepet játszó kulcsfontosságú jelátviteli útvonalak aktivációs állapotának tanulmányozására is felhasználták. A proteomikai elemzések kimutatták, hogy a Wilms1 sejtek számos receptor-tirozin-kináz, köztük az EGFR és a PDGFR β , valamint a downstream MAPK jelátviteli útvonalak foszforilációját és aktivációját mutatják. Ezek az eredmények kiemelik a Wilms1 sejtvonal jelentőségét a Wilms-tumor célzott terápiás megközelítései feltárásában azáltal, hogy feltárják ezen útvonalak szerepét a rákos sejtek túlélésében, proliferációjában és differenciálódásában.

Organism Emberi

Tissue Vese

Applications In vitro sejt kultúra modell. Biokémiai vizsgálatok

Synonyms Wilms1-2l

Jellemzők

Age 2 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Orsó alakú

Wilms1 sejtek | 300411**Cell type** Wilms sejtek**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** Wilms1 (Cytion katalógusszám: 300411)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SC**Biomolekuláris adatok****Receptors expressed** EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL, FGFR1, PDGFRbeta receptor tirozinkinázok**Tumorigenic** Igen, meztelen egereken. Wilms-tumornak megfelelő kis sejtekkel rendelkező tumort képez (a xenotranszplantátumok nem biztos, hogy teljesen reprezentálják a Wilms-tumort, lásd E. Kuncce Stroup 2017)**Viruses** HIV-1: negatív, HBV: negatív, HCV: negatív**Mutational profile** WT1 mutációs státusz: homozigóta c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutációs státusz: heterozigóta TCT>TTT, p.S45F**Karyotype** 46, normál**A kezelése****Culture Medium** MSCGM kit (a Lonzától)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 óra

Wilms1 sejtek | 300411

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal hetente 1-2 alkalommal

Post-Thaw Recovery Gyors

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Wilms1 sejtek | 300411

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Wilms1 sejtek | 300411

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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