

Wilms6 sejtek | 300415

Általános információk

Description

A Wilms6 sejtvonalat egy csírvonalbeli WT1 mutációval rendelkező gyermekbeteg primer Wilms-tumorából hozták létre. Ezt a sejtvonalat a WT1 gén homozigóta nonszensz mutációja (c.1168 C>T, p.R390X) határozza meg, amely csonka és nem funkcionális WT1 fehérjét eredményez. A WT1 a vese fejlődésének kritikus szabályozója, és elvesztése erősen összefügg a Wilms-tumorral, különösen a mesenchymális differenciálódást mutató esetekben. A Wilms6 sejtvonalt fontos modell a WT1 teljes elvesztésének tumorigén hatásainak tanulmányozására, különösen az epiteliális és mesenchymális jellemzőket egyaránt mutató tumorok összefüggésében.

A Wilms6 sejtek a CTNNB1 génben is mutációt hordoznak, amely kifejezetten a 45-ös szerint (p.S45F) érinti, amely a β -katenin degradációját szabályozó foszforiláció kulcsfontosságú helye. Ez a mutáció a β -Catenin stabilizálódásához és nukleáris felhalmozódásához vezet, ami a Wnt jelátviteli út vonal konstitutív aktiválódását eredményezi. A Wnt jelátvitel aberráns aktivációja a Wilms-tumorkban a sejtproliferáció és a tumorigenezis ismert mozgatórugója, így a Wilms6 értékes eszköz a WT1 mutációval rendelkező tumorokban a Wnt-út vonal diszregulációjának szerepének vizsgálatára.

Fenotípusosan a Wilms6 sejtek mesenchymális morfológiát mutatnak, a vimentin erős expressziójával és az epiteliális markerek, például a citokeratin hiányával, ami az eredeti tumor stromális jellegét tükrözi. Kimutatták, hogy ezek a sejtek korlátozott, de figyelemre méltó differenciálódási potenciállal rendelkeznek, beleértve azt a képességet, hogy bizonyos körülmények között izomszerű sejtekké differenciálódnak, ami tükrözi a néhány Wilms-tumorban megfigyelt mesenchymális differenciálódást. A Wilms6 proteomikai vizsgálatai több receptor-tirozin-kináz (RTK), köztük a PDGFR β és az AXL aktiválódását azonosították, amelyek részt vesznek a sejtek túlélésének, proliferációjának és migrációjának elősegítésében. Az olyan jelátviteli út vonalakat, mint a MAPK és a PI3K/AKT downstream aktivációja tovább hangsúlyozza e sejt vonal agresszív jellegét.

Összességében a Wilms6 sejt vonal kulcsfontosságú modellként szolgál a Wilms-tumor kialakulásának hátterében álló molekuláris mechanizmusok feltárásához, különösen a WT1 teljes elvesztése és a Wnt-szignálok aktiválódása esetén. Genetikai és fenotípusos jellemzői kiváló platformmá teszik a WT1-hiány és az aberráns jelátviteli út vonalakat közötti kölcsönhatás tanulmányozására, betekintést nyújtva ezen agresszív tumortípus lehetséges terápiás célpontjaiba.

Organism Emberi

Tissue Vese

Disease Wilms-tumor

Applications In vitro sejt kultúra modell. Biokémiai vizsgálatok

Jellemzők

Age 15 hónap

Gender Férfi

Wilms6 sejtek | 300415**Ethnicity** Kaukázusi**Morphology** Orsó alakú**Cell type** Wilms sejtek**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** Wilms6 (Cytion katalógusszám: 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Biomolekuláris adatok****Mutational profile** WT1 mutációs státusz: homozigóta c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutációs státusz: homozigóta del TCT, p.DS45**A kezelése****Culture Medium** MSCGM kit (a Lonzától)**Dissociation Reagent** Accutase**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.

Wilms6 sejtek | 300415**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.

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 krioüveget 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 sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal 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 sejtvonalakat 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.

Wilms6 sejtek | 300415

Shipping Conditions

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

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C 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*: '02:05:01, '29:01:01

B*: '07:05:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '15:05:02

DRB1*: '07:01:01, '10:01:01

DQA1*: '01:05:01, '02:01:01

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

DPB1*: '04:02:01, '17:01:01

E: '01:01:01