

Wilms2 sejtek | 300413

Általános információk

Description

A Wilms2 sejtvonal egy csírvonalbeli WT1 mutációval rendelkező gyermekbeteg primer Wilms-tumorából származik. Ezt a sejtvonalat a WT1 gén homozigóta nonszensz mutációja jellemzi (c.1084 C>T, p.R362X), amely egy csonka, nem funkcionális WT1 fehérje termelődését eredményezi. A funkcionális WT1, a vese fejlődéséhez nélkülözhetetlen gén elvesztése a Wilms-tumor bizonyos altípusainak jellemzője, különösen a mesenchymális vagy stromális differenciálódással járó típusoké. A Wilms2 sejtvonal jelentős modell a WT1 elvesztése által vezérelt tumorigenikus folyamatok tanulmányozására, különösen az egyéb kritikus genetikai jellemzőket megőrző Wilms-tumorerősszűrésében.

A Wilms2 sejtek mutációkat hordoznak a CTNNB1 génben is, amely a β -katenint, a Wnt jelátviteli útvonal egyik kulcskomponensét kódolja. Ezek a mutációk, amelyek kifejezetten a 45-ös szerint érintik, a β -Catenin stabilizálódásához és felhalmozódásához vezetnek, ami a Wnt-útvonal konstitutív aktiválódását eredményezi. Ez az aktiváció a Wilms-tumorban a sejtproliferáció és a tumorigenezis ismert hajtóereje, így a Wilms2 értékes modell annak megértéséhez, hogy az aberráns Wnt-szignalizáció hogyan járul hozzá a WT1-mutációval rendelkező tumorerősszűréséhez és progressziójához.

A fenotípust tekintve a Wilms2 sejtek mesenchymalis morfológiát mutatnak, vimentint expresszálnak, és hiányoznak belőlük az epithelialis markerek, például a citokeratin. Ez összhangban van a tumor stromális jellemzőivel, és aláhúzza a WT1 szerepét a vese fejlődése során a mesenchymalis-epithelialis átmenetek szabályozásában. A Wilms2 proteomikai elemzései számos receptor-tirozin-kináz (RTK) aktiválódását azonosították, köztük a PDGFR β és az AXL aktiválódását, amelyekről ismert, hogy támogatják a tumorsejtek túlélését és proliferációját. Emellett olyan downstream útvonalak is aktiválódnak, mint a MAPK és a PI3K/AKT, ami tovább hozzájárul a Wilms2 sejtek rosszindulatú tulajdonságaihoz.

Összességében a Wilms2 sejtvonal alapvető eszközként szolgál a WT1 elvesztése és az aberráns Wnt-szignalizáció által vezérelt Wilms-tumor molekuláris mechanizmusainak feltárásához. Genetikai és fenotípusos jellemzői robusztus platformot biztosítanak a potenciális terápiás célpontok vizsgálatához és a kulcsfontosságú jelátviteli útvonalak szerepének megértéséhez a mesenchymális komponensű Wilms-tumorerősszűrésében.

Organism Emberi

Tissue Vese

Disease Wilms-tumor

Applications In vitro sejtkultúra modell. Biokémiai vizsgálatok

Jellemzők

Age 1 év

Gender Férfi

Ethnicity Kaukázusi

Wilms2 sejtek | 300413

Morphology Orsó alakú

Cell type Wilms sejtek

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation Wilms2 (Cytion katalógusszám: 300413)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SE

Biomolekuláris adatok

Mutational profile WT1 mutációs státusz: homozigóta c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutációs státusz: heterozigóta del TCT>TAT, p.S45Y

A kezelése

Culture Medium MSCGM kit (a Lonztól)

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 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

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

Wilms2 sejtek | 300413

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 °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 °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 °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 °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 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Wilms2 sejtek | 300413

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*: '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