

Wilms11 sejtek | 300420

Általános információk

Description

A Wilms11 sejtvonal egy gyermekbeteg primer Wilms-tumorából (nefroblastoma) származik. Sok más Wilms-tumor-sejtvonaltól eltérően a Wilms11-et a vad típusú WT1 jelenléte jellemzi, ami azt jelenti, hogy nem tartalmaz mutációkat a WT1 génben, ami jellemzően az agresszívebb vagy stromális fenotípust mutató Wilms-tumorkhoz társul. A Wilms11 tumor azonban jelentős stromális differenciálódást mutatott, nagy területeken rhabdomyomatos differenciálódást, ami a tumoron belüli mesenchymális elemekre utal. A vad típusú WT1 jelenléte a tumor stromális differenciálódásával párosulva egyedülálló modellt nyújt a Wilms-tumor biológiájának megértéséhez azokban az esetekben, amikor a WT1 mutáció hiányzik.

A Wilms11 genetikai vizsgálatai kimutatták, hogy ez a sejtvonal tumorspecifikus mutációt hordoz a CTNNB1-ben, a β -katenin kódoló génben, amely döntő szerepet játszik a Wnt jelátviteli útvonalban. A Wilms11-ben ez a mutáció a 45-ös szerint érinti, amely a β -katenin degradációjában részt vevő kulcsfontosságú foszforilációs hely. A CTNNB1 mutáció a β -Catenin stabilizációját eredményezi, ami a β -Catenin felhalmozódásához és a Wnt jelátviteli útvonal konstitutív aktiválásához vezet, amely a sejtprolifерáció és a tumorigenezis egyik mozgatórugója. Ez teszi a Wilms11-et fontos modellé a Wnt-szignalizáció és a Wilms-tumor kialakulása közötti kölcsönhatás tanulmányozására, különösen azokban az esetekben, amikor a WT1 érintetlen marad.

A Wilms11 proteomikai elemzése számos receptor-tirozin-kináz (RTK), köztük a PDGFR β és az AXL aktiválódását mutatták ki, amelyek részt vesznek a tumorsejtek növekedésének és túlélésének irányításában. A downstream jelátviteli útvonalak, például a MAPK és a PI3K/AKT útvonalak szintén aktiválódnak a Wilms11 sejtekben, hozzájárulva tumorigén viselkedésükhöz. A Wilms11 sejteknek a mesenchymalis differenciálódásra, különösen a rhabdomyomatos differenciálódásra való képessége kiemeli a Wilms-tumor mesenchymalis komponenseinek tanulmányozására szolgáló modellként való potenciáljukat. Összességében a Wilms11 értékes eszközként szolgál a Wilms-tumorigenezist a WT1 mutációk hiányában, de a Wnt-útvonal aktiválódásának kontextusában irányító molekuláris mechanizmusok vizsgálatára.

Organism Emberi

Tissue Vese

Disease Wilms-tumor

Applications In vitro sejtkultúra modell. Biokémiai vizsgálatok

Jellemzők

Age 22 hónap

Gender Férfi

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Orsó alakú

Wilms11 sejtek | 300420

Cell type Wilms sejtek**Growth properties** Adherent

Szabályozási adatok

Citation Wilms11 (Cytion katalógusszám: 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM

Biomolekuláris adatok

Mutational profile WT1 mutációs státusz: homozigóta WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1 mutációs státusz: vad típus

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.**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 krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Wilms11 sejtek | 300420

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.

Wilms11 sejtek | 300420

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.