

Wilms11 ląstelės | 300420

Bendra informacija

Description

Wilms11 ląstelių linija buvo gauta iš pirminio Wilms naviko (nefroblastomos), kuris buvo diagnozuotas vaikui. Skirtingai nuo daugelio kitų Vilms naviko ląstelių linijų, "Wilms11" būdinga laukinio tipo WT1, t. y. joje nėra WT1 geno mutacijų, kurios paprastai siejamos su agresyvesniais ar stromos fenotipais pasižyminčiais Vilms navikais. Tačiau "Wilms11" navikas pasižymėjo didele stromos diferenciacija, su didelėmis rbdomiomatinės diferenciacijos sritimis, rodančiomis mezenchiminius elementus navike. Laukinio tipo WT1 buvimas kartu su stromos diferenciacija navike yra unikalus modelis, leidžiantis suprasti Vilms naviko biologiją tais atvejais, kai nėra WT1 mutacijų.

Genetiniai Vilms11 tyrimai parodė, kad ši ląstelių linija turi navikui būdingą CTNNB1 mutaciją - geną, koduojantį β -kateniną, kuris atlieka svarbų vaidmenį Wnt signalų kelyje. Wilms11 atveju ši mutacija paveikia 45 seriną - pagrindinę fosforilinimo vietą, dalyvaujančią β -Catenin skaidyme. CTNNB1 mutacija stabilizuoja β -kateniną, todėl jis kaupiasi ir konstituciškai aktyvuoja Wnt signalinį kelią, kuris lemia ląstelių proliferaciją ir navikinį vystymąsi. Dėl to Wilms11 yra svarbus modelis Wnt signalų sąveikai ir Wilms naviko vystymuisi tirti, ypač tais atvejais, kai WT1 lieka nepažeistas.

Atlikus Wilms11 proteominę analizę nustatyta, kad aktyvuotos kelios receptorių tirozino kinazės (RTK), įskaitant PDGFR β ir AXL, kurios skatina naviko ląstelių augimą ir išgyvenamumą. Wilms11 ląstelėse taip pat suaktyvėja tolesni signaliniai keliai, tokie kaip MAPK ir PI3K/AKT keliai, kurie prisideda prie jų navikinės elgsenos. Wilms11 ląstelių gebėjimas pereiti mezenchiminę diferenciaciją, ypač rbdomiomatinę diferenciaciją, išryškina jų, kaip modelio, potencialą tiriant Vilms naviko mezenchiminius komponentus. Apskritai Wilms11 yra vertingas įrankis tiriant molekulinis mechanizmus, lemiančius Wilms naviko genezę, kai nėra WT1 mutacijų, bet yra aktyvuotas Wnt kelias.

Organism Žmogus

Tissue Inkstai

Disease Vilms navikas

Applications In vitro ląstelių kultūros modelis. Biocheminiai tyrimai

Charakteristikos

Age 22 mėnesiai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukaziečių

Morphology Verpstės formos

Cell type Vilms ląstelės

Wilms11 ląstelės | 300420

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation Wilms11 (Cytion katalogo numeris 300420)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SM

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile WT1 mutacijos būklė: homozigotinė WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1 mutacijos būklė: laukinis tipas

Tvarkymas

Culture Medium MSCGM rinkinys (iš "Lonza")

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Wilms11 ląstelės | 300420

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Wilms11 ląstelės | 300420

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.