

Wilms10M šūnas | 300418

Vispārīga informācija

Description

Wilms10M šūnu līnija tika iegūta no metastātiska plaušu mezgliņa pacientam ar Wilms audzēju (nefroblastomu). Wilms10M šūnu līnijai, tāpat kā tās primārajam audzējam, Wilms10T, ir raksturīga homozigotiska WT1 gēna delecija, kā rezultātā WT1 proteīns pilnībā nav sastopams. WT1 ir būtisks normālai nieru attīstībai, un tā izdzēšana ir saistīta ar agresīvāku audzēja uzvedību, jo īpaši metastātiskā vidē. Turklāt Wilms10M šūnām piemīt heterozigotiskuma zudums (LOH) 11p15 hromosomu apgabalā, kas ietver IGF2 gēnu, kas vēl vairāk veicina šo šūnu ļaundabīgās īpašības.

Wilms10M šūnas saglabā stabilu kariotipu bez būtiskām hromosomu pārkārtojumiem, izņemot specifisku WT1 reģiona izdzēšanu. Šī šūnu līnija, kas iegūta no metastātiskiem audiem, ir īpaši vērtīga, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas izraisa metastāzes Vilmsa audzējā. Šīm šūnām piemīt mezenhimālas īpašības, tās ekspresē tādus marķierus kā vimentīns, bet tām nav epitēlija marķieru, piemēram, citokeratīna, kas norāda uz to izcelsmi no audzēja stromālā komponenta.

Wilms10M pētījumos galvenā uzmanība ir pievērsta signalizācijas ceļiem, kas ir aktīvi šajās metastātiskajās šūnās. Proteomiskās analīzes ir pierādījušas vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp IGF1R, PDGFRβ un AXL, aktivizāciju, kas veicina šūnu izdzīvošanu, proliferāciju un metastātisko potenciālu. Aktivizējas arī pakārtotie MAPK un PI3K/AKT signalizācijas ceļi, kam ir būtiska nozīme Wilms10M šūnu invazīvā un metastātiskā fenotipa uzturēšanā. Ņemot vērā Wilms10M metastātisko izcelsmi, tā ir būtisks modelis, lai izprastu molekulārās norises, kas ir Wilms audzēja metastāžu pamatā, un lai izstrādātu mērķtiecīgas terapeitiskās stratēģijas metastātisku slimību ārstēšanai.

Organism Cilvēks

Tissue Nieres

Disease Vilmsa audzējs

Applications In vitro šūnu kultūras modelis. Bioķīmiskie pētījumi

Synonyms Wilms10

Raksturojums

Age 2 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Vārpstas formas

Wilms10M šūnas | 300418

Cell type Vilmsa šūnas**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** Wilms10M (Cytion kataloga numurs 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Biomolekulārie dati****Mutational profile** WT1 mutācijas statuss: homozigotiska del WT1 del11p13. LOH: nav 11p13, bet UPD 11p15. CTNNB1 mutācijas statuss: homozigotiska del TCT, p.DS45, UPD 3p**Darbs ar****Culture Medium** MSCGM komplekts (no Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Wilms10M šūnas | 300418

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Wilms10M šūnas | 300418

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.