

Wilms1 šūnas | 300411

Vispārīga informācija

Description

Wilms1 šūnu līnija tika iegūta no primārā Wilms audzēja parauga, kas iegūts no pacienta ar lieliem abpusējiem nieru audzējiem, kas liecina par Wilms audzēju, bērnu nefroblastomu. Šai šūnu līnijai ir homozigotiska bezjēdzīga WT1 gēna mutācija (c.149 C>A, p.S50X), kas izraisa saīsinātu un nefunkcionālu WT1 proteīnu. WT1 gēns, kas ir ļoti svarīgs nieru attīstībai un funkcijām, bieži mutē Vilmsa audzējos, jo īpaši stromas apakštipa audzējos, kam raksturīga ektopiska mezenhīma diferenciacija. Tāpēc Wilms1 šūnas ir unikāls in vitro modelis, lai pētītu WT1 funkcijas zuduma sekas audzēja bioloģijā.

Wilms1 šūnu līnija saglabā stabilu kariotipu bez būtiskām hromosomālām anomālijām, kas ļauj droši audzēt ilgstoši. Šīm šūnām piemīt mezenhīma fenotips, ko raksturo vimentīna ekspresija un tādu epitēlija marķieru kā citokeratīna trūkums, kas atbilst to stromālai izcelsmei. Turklāt šūnu līnija uzrāda ierobežotu, bet ievērojamu mezenhimālo diferenciacijas spēju, tostarp spēju piemērotos apstākļos diferencēties muskuļiem līdzīgās šūnās. Tas padara Wilms1 par nenovērtējamu līdzekli mezenhimālās diferenciacijas molekulāro mehānismu un to deregulācijas Vilmsa audzēja patoģenēzes procesā izpētei.

Wilms1 ir izmantots arī, lai pētītu audzēja progresijā iesaistīto galveno signalizācijas ceļu aktivācijas statusu. Proteomiskās analīzes liecina, ka Wilms1 šūnās fosforilē un aktivizējas vairākas receptoru tirozīna kināzes, tostarp EGFR un PDGFRβ, kā arī pakārtotie MAPK signalizācijas ceļi. Šie atklājumi uzsver Wilms1 šūnu līnijas nozīmīgumu, pētot mērķtiecīgas terapeitiskās pieejas Wilms audzēja ārstēšanai, analizējot šo ceļu lomu vēža šūnu izdzīvošanā, proliferācijā un diferenciacijā.

Organism Cilvēks

Tissue Nieres

Applications In vitro šūnu kultūras modelis. Bioķīmiskie pētījumi

Synonyms Wilms1-2l

Raksturojums

Age 2 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Vārpstas formas

Cell type Vilmsa šūnas

Wilms1 šūnas | 300411

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation Wilms1 (Cytion kataloga numurs 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Receptoru tirozīna kināzes EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Jā, kailām pelēm. Veido audzēju ar mazām šūnām, kas atbilst Vilma audzējam (ksenogrāfti var pilnībā neatspoguļot Vilma audzējus, skatīt E. Kuncė Stroup 2017)

Viruses HIV-1: negatīvs, HBV: negatīvs, HCV: negatīvs

Mutational profile WT1 mutācijas statuss: homozigotiska c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutācijas statuss: heterozigotiska TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normāli

Darbs ar

Culture Medium MSCGM komplekts (no Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 stundas

Wilms1 šūnas | 300411

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.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 1 līdz 2 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Fast

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.

Wilms1 šūnas | 300411**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.

Wilms1 šūnas | 300411

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

HLA alēles

A*: '03:01:01, '24:02:01
B*: '35:03:01, '38:01:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '07:01:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:03:01, '01:03:02