

imWilms1 šūnas | 300412

Vispārīga informācija

Description

Wilms1 šūnu līnija sākotnēji tika iegūta no primārā Vilmsa audzēja, kas iegūts no pacienta, kuram diagnosticēti lieli abpusēji nieru audzēji, kas ir raksturīga Vilmsa audzēja (nefroblastomas) pazīme. Šai šūnu līnijai ir homozigotiska bezjēdzīga WT1 gēna mutācija (c.149 C>A, p.S50X), kas izraisa saīsināta, nefunkcionāla WT1 proteīna veidošanos. WT1 ir ļoti svarīgs gēns nieru attīstībā, un tā mutācija ir cieši saistīta ar Vilmsa audzēja patoģenēzi, jo īpaši audzējos ar stromālo diferenciaciju. Wilms1 šūnām ir stabils kariotips bez būtiskām hromosomālām anomālijām, un tām ir raksturīgs mezenhīma fenotips, kas izpaužas kā vimentīna ekspresija, bet nav epitēlija marķieru, piemēram, citokeratīna. Šai līnijai piemīt ierobežota, bet nozīmīga mezenhīmālās diferenciacijas spēja, tostarp spēja noteiktos apstākļos diferencēties muskuļiem līdzīgās šūnās, kas padara to par svarīgu modeli WT1 mutāciju molekulāro seku izpētei.

Lai pārvarētu primāro Wilms1 šūnu ierobežoto dzīves ilgumu, tika izveidota imWilms1 šūnu līnija, ieviešot sākotnējās audzēja šūnās trīskāršu mutantu SV40 lielo T antigēnu (U19dl89-97tsA58), tādējādi veicinot to imortalizāciju. Šī modifikācija ļauj imWilms1 šūnām vairoties neierobežoti ilgi, vienlaikus saglabājot hromosomu stabilitāti, tādējādi piedāvājot uzticamu modeli ilgtermiņa pētījumiem. Imortalizētās imWilms1 šūnas turpina uzrādīt to pašu WT1 mutāciju un saglabā mezenhīmālās īpašības, kādas piemīt vecākajai Wilms1 līnijai.

Papildus ģenētiskajām un fenotipiskajām īpašībām imWilms1 šūnu līnija ir plaši analizēta attiecībā uz tās signālu ceļu aktivitāti. Proteomikas pētījumi atklāja vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp EGFR, PDGFRβ un AXL, fosforilēšanu un aktivizēšanu ar pakārtotu MAPK signalizācijas ceļu aktivizēšanu. Šo ceļu konsekventa aktivizācija imWilms1 šūnās uzsver to nozīmi mērķtiecīgu Vilmsa audzēja terapeitisko stratēģiju izpētē. Kopumā imWilms1 kalpo par stabilu un ilgtermiņa modeli, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir Vilmsa audzēja attīstības un progresēšanas pamatā, jo īpaši tos, ko izraisa WT1 mutācijas un novirzes signalizācijas ceļos.

Organism Cilvēks

Tissue Nieres

Disease Vilmsa audzējs

Synonyms IM-WT-1

Raksturojums

Age 10 mēneši

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Vārpstas formas

Cell type Vilmsa šūnas

imWilms1 šūnas | 300412

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation imWilms1 (Cytion kataloga numurs 300412)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SN

GMO Status GMO-S1: Šī imWilms1 cilvēka Vilmsa audzēja līnija satur trīskārši mutantu SV40 T-antigēna kaseti, kas ļauj veikt nosacītu imortalizāciju nefroblastomas pētījumiem. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium MSCGM komplekts (no Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņem 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.

Fluid renewal 1 līdz 2 reizes nedēļā

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 atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

imWilms1 šūnas | 300412

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.

imWilms1 šūnas | 300412

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