

Wilms6 šūnas | 300415

Vispārīga informācija

Description

Wilms6 šūnu līnija tika izveidota no primārā Wilms audzēja pediatrika pacienta ar WT1 mutāciju. Šai šūnu līnijai ir homozigotiska nonsensa mutācija WT1 gēnā (c.1168 C>T, p.R390X), kas izraisa saīsinātu un nefunkcionālu WT1 proteīnu. WT1 ir kritiski svarīgs nieru attīstības regulators, un tā zudums ir cieši saistīts ar Vilmsa audzēju, jo īpaši gadījumos, kad vēzis ir mezenhimatiski diferencēts. Wilms6 šūnu līnija ir svarīgs modelis, lai pētītu pilnīgas WT1 zaudēšanas ietekmi uz audzēju, jo īpaši saistībā ar audzējiem, kam piemīt gan epitēlija, gan mezenhīma īpašības.

Wilms6 šūnām ir arī mutācija CTNNB1 gēnā, kas īpaši ietekmē 45. serīnu (p.S45F) - galveno fosforilēšanas vietu, kas regulē β -Catenin degradāciju. Šī mutācija izraisa β -Catenin stabilizāciju un kodolu akumulāciju, kā rezultātā konstitīvi aktivizējas Wnt signalizācijas ceļš. Zināms, ka Wnt signalizācijas aberantā aktivizācija ir Vilmsa audzēju šūnu proliferācijas un audzēja rašanās virzītājspēks, tāpēc Wilms6 ir vērtīgs instruments, lai pētītu Wnt ceļa disregulācijas nozīmi audzējos ar WT1 mutācijām.

Fenotipiski Wilms6 šūnām ir mezenhimāla morfoloģija ar spēcīgu vimentīna ekspresiju un tādu epitēlija marķieru kā citokeratīna trūkumu, kas atspoguļo sākotnējā audzēja stromālo raksturu. Šīm šūnām piemīt ierobežots, bet ievērojams diferenciācijas potenciāls, tostarp spēja īpašos apstākļos diferencēties par muskuļiem līdzīgām šūnām, kas atspoguļo mezenhimālo diferenciāciju, kas novērota dažos Vilmsa audzējos. Vilmsa audzēju proteomikas pētījumos ir konstatēta vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp PDGFR β un AXL, aktivācija, kas veicina šūnu izdzīvošanu, proliferāciju un migrāciju. Pakārtotā signalizācijas ceļu, piemēram, MAPK un PI3K/AKT, aktivizācija vēl vairāk uzsver šīs šūnu līnijas agresīvo raksturu.

Kopumā Wilms6 šūnu līnija kalpo kā būtisks modelis, lai izpētītu molekulāros mehānismus, kas ir Vilmsa audzēja attīstības pamatā, jo īpaši gadījumos, kad ir pilnīgs WT1 zudums apvienojumā ar Wnt signālu aktivizāciju. Tās ģenētiskās un fenotipiskās īpašības padara to par lielisku platformu, lai pētītu mijiedarbību starp WT1 deficītu un aberantiem signālu ceļiem, sniedzot ieskatu potenciālajos terapeitiskajos mērķos šī agresīvā audzēja tipa ārstēšanā.

Organism Cilvēks

Tissue Nieres

Disease Vilmsa audzējs

Applications In vitro šūnu kultūras modelis. Bioķīmiskie pētījumi

Raksturojums

Age 15 mēneši

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Wilms6 šūnas | 300415

Morphology Vārpstas formas

Cell type Vilmsa šūnas

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation Wilms6 (Cytion kataloga numurs 300415)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SI

Biomolekulārie dati

Mutational profile WT1 mutācijas statuss: homozigotiska c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutācijas statuss: homozigotiska del TCT, p.DS45

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 atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

Wilms6 šūnas | 300415

**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.

Wilms6 šūnas | 300415

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*: '02:05:01, '29:01:01

B*: '07:05:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '15:05:02

DRB1*: '07:01:01, '10:01:01

DQA1*: '01:05:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:01:01

DPB1*: '04:02:01, '17:01:01

E: '01:01:01