

Wilms11 šūnas | 300420

Vispārīga informācija

Description

Wilms11 šūnu līnija tika iegūta no primārā Wilms audzēja (nefroblastomas) pediatriskā pacientā. Atšķirībā no daudzām citām Vilmsa audzēja šūnu līnijām Wilms11 ir raksturīga savvaļas tipa WT1 klātbūtne, t. i., tajā nav WT1 gēna mutāciju, kas parasti ir saistītas ar agresīvākiem vai stromas fenotipiem raksturīgiem Vilmsa audzējiem. Tomēr Wilms11 audzējs uzrādīja ievērojamu stromālo diferenciāciju ar lieliem rhabdomyomatozas diferenciācijas apgabaliem, kas liecina par mezenhimāliem elementiem audzējā. Savvaļas tipa WT1 klātbūtne kopā ar audzēja stromālo diferenciāciju nodrošina unikālu modeli, lai izprastu Vilmsa audzēja bioloģiju gadījumos, kad WT1 mutācijas nav konstatētas.

Wilms11 ģenētiskie pētījumi liecina, ka šai šūnu līnijai ir audzējam raksturīga mutācija CTNNB1 gēnā, kas kodē β -katenīnu, kuram ir izšķiroša nozīme Wnt signalizācijas ceļā. Wilms11 gadījumā šī mutācija ietekmē 45. serīnu, kas ir galvenā fosforilēšanas vieta β -Catenin noārdīšanās procesā. CTNNB1 mutācijas rezultātā β -Catenin stabilizējas, kā rezultātā tas uzkrājas un konstitīvi aktivizējas Wnt signalizācijas ceļš, kas ir šūnu proliferācijas un audzēju rašanās virzītājspēks. Tas padara Wilms11 par svarīgu modeli, lai pētītu mijiedarbību starp Wnt signalizāciju un Wilms audzēja attīstību, īpaši gadījumos, kad WT1 paliek neskarts.

Wilms11 proteomikas analīzes ir atklājušas vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp PDGFR β un AXL, aktivizāciju, kas veicina audzēja šūnu augšanu un izdzīvošanu. Wilms11 šūnās ir aktivizēti arī tādi pakārtotie signalizācijas ceļi kā MAPK un PI3K/AKT ceļi, kas veicina to audzēja uzvedību. Wilms11 šūnu spēja veikt mezenhimālo diferenciāciju, jo īpaši rhabdomyomatozo diferenciāciju, izceļ to potenciālu kā modeļa Vilmsa audzēja mezenhimālo komponentu izpētei. Kopumā Wilms11 kalpo kā vērtīgs instruments, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas nosaka Wilms audzēju rašanos, ja nav WT1 mutāciju, bet Wnt ceļa aktivizācijas kontekstā.

Organism Cilvēks

Tissue Nieres

Disease Vilmsa audzējs

Applications In vitro šūnu kultūras modelis. Bioķīmiskie pētījumi

Raksturojums

Age 22 mēneši

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Vārpstas formas

Cell type Vilmsa šūnas

Wilms11 šūnas | 300420

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation Wilms11 (Cytion kataloga numurs 300420)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SM

Biomolekulārie dati

Mutational profile WT1 mutācijas stāvoklis: homozigotiska WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1 mutācijas statuss: savvaļas tips

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.

Wilms11 šūnas | 300420**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.

Wilms11 šūnas | 300420

**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.