

Клетки Wilms1 | 300411

Обща информация

Description

Клетъчната линия Wilms1 е получена от първична проба от тумор на Уилмс, получена от пациент с големи двустранни тумори на бъбреците, което е показателно за тумор на Уилмс, педиатричен нефробластом. Тази клетъчна линия е носител на хомозиготна nonsense мутация в гена WT1 (с.149 C>A, р.S50X), която води до съкратен и нефункционален протеин WT1. Генът WT1, който е от решаващо значение за развитието и функцията на бъбреците, често мутира при туморите на Вилмс, особено при тези със стромален подтип, който проявява ектопична мезенхимна диференциация. Следователно клетките Wilms1 представляват уникален in vitro модел за изучаване на последиците от загубата на функцията на WT1 в туморната биология.

Клетъчната линия Wilms1 поддържа стабилен кариотип без значителни хромозомни аномалии, което позволява надеждно дългосрочно култивиране. Тези клетки проявяват мезенхимен фенотип, характеризира се с експресия на виментин и липса на епителни маркери като цитокератин, което съответства на техния стромален произход. Освен това клетъчната линия демонстрира ограничена, но забележима способност за мезенхимна диференциация, включително способност да се диференцира в мускулоподобни клетки при подходящи условия. Това прави Wilms1 безценен инструмент за изследване на молекулярните механизми на мезенхимната диференциация и нейната дерегулация в патогенезата на тумора на Wilms.

Wilms1 се използва и за изследване на състоянието на активиране на ключови сигнални пътища, участващи в туморната прогресия. Протеомичните анализи показват, че клетките Wilms1 показват фосфорилиране и активиране на няколко рецепторни тирозинови кинази, включително EGFR и PDGFR β , както и на низходящите MAPK сигнални пътища. Тези констатации подчертават значението на клетъчната линия Wilms1 за проучване на целеви терапевтични подходи за тумора на Wilms чрез разчленяване на ролята на тези пътища в оцеляването, пролиферацията и диференциацията на раковите клетки.

Organism Човек

Tissue Бъбреци

Applications Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания

Synonyms Wilms1-2l

Характеристики

Age 2 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Клетки Wilms1 | 300411

Morphology С форма на вретено

Cell type Клетки на Вилмс

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation Wilms1 (каталожен номер 300411 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Биомолекулярни данни

Receptors expressed Рецепторни тирозинкинази EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Да, при голи мишки. Образува тумор с малки клетки, съответстващ на тумор на Вилмс (ксенографтите може да не представляват напълно тумори на Вилмс, вж. E. Kuncz Stroup 2017)

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

Mutational profile Статус на мутация на WT1: хомозиготна с. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, статус на мутация на CTNNB1: хетерозиготна TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, нормално

Работа с

Culture Medium Комплект MSCGM (от Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 часа

Клетки Wilms1 | 300411

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal 1 до 2 пъти седмично

Post-Thaw Recovery Бърз

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки Wilms1 | 300411**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимицробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки Wilms1 | 300411

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

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