

Клетки Wilms3 | 300414

Обща информация

Description

Клетъчната линия Wilms3 е създадена от първичен тумор на Wilms при педиатричен пациент, характеризиращ се със соматична мутация на WT1. За разлика от много други клетъчни линии с тумор на Wilms, Wilms3 е носител на хетерозиготна фреймшифт мутация в гена WT1 (с.1293-1294insA, р.V432SfsX87), която води до производството на съкратен протеин WT1. Тази частична загуба на функцията на WT1 се свързва с развитието на тумори, които показват стромален или мезенхимен фенотип. Въпреки това мутацията на WT1 в Wilms3 не е хомозиготна, което усложнява изследването ѝ, тъй като тя запазва част от функцията на WT1, която може да повлияе по различен начин на туморната биология в сравнение с клетъчните линии с пълна загуба на WT1.

Wilms3 също така носи мутация в гена CTNNB1, засягаща по-специално треонин 41 (р.T41A), който играе критична роля в сигналния път на Wnt. Тази мутация стабилизира β -Катенин, предотвратявайки разграждането му и водейки до конститутивно активиране на пътя на Wnt. Постоянното активиране на Wnt сигнализацията стимулира клетъчната пролиферация и допринася за туморогенезата при Wilms3, което го прави ключов модел за изучаване на въздействието на CTNNB1 мутациите в контекста на частично функционален WT1 фон.

Фенотипно клетките на Wilms3 показват мезенхимно-подобна морфология, експресират виментин и нямат цитокератин, което съответства на стромалните характеристики, наблюдавани в оригиналния тумор. Тези клетки показват ограничен диференцировъчен потенциал, като могат да претърпят известна мезенхимна диференциация при специфични условия. Протеомичните анализи на Wilms3 разкриват активирането на няколко рецепторни тирозинкинази (RTK), включително PDGFR β и AXL, които подпомагат оцеляването и пролиферацията на клетките. Освен това се активират сигнални пътища надолу по веригата, като MAPK и PI3K/AKT, което засилва злокачествените свойства на клетките Wilms3.

Един уникален аспект на Wilms3 е неговата частична функционалност на WT1, което осигурява различна перспектива за това как мутациите на WT1 допринасят за биологията на тумора на Wilms, когато мутацията не е пълна. Взаимодействието между WT1 и Wnt сигнализацията в Wilms3 предлага ценна възможност за изучаване на нюансираните роли, които тези пътища играят в развитието на туморите. Като цяло Wilms3 служи като важен модел за изследване на молекулярните механизми, лежащи в основата на тумора на Wilms при наличие на частична загуба на WT1 и конститутивно активиране на пътя на Wnt.

Organism Човек

Tissue Бъбреци

Disease Тумор на Вилмс

Applications Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания

Характеристики

Age 11-12 месеца

Клетки Wilms3 | 300414

Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Morphology	С форма на вретено
Cell type	Клетки на Вилмс
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	Wilms3 (каталожен номер 300414 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SF

Биомолекулярни данни

Mutational profile	Статус на мутация на WT1: хомозиготна с.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, статус на мутация на CTNNB1: див тип
---------------------------	---

Работа с

Culture Medium	Комплект MSCGM (от Lonza)
-----------------------	---------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

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.
---------------------	---

Клетки Wilms3 | 300414**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.

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 антимикуробен 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 $300 \times g$ 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

Клетки Wilms3 | 300414

Freezing Procedure

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.

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
B*: '35:01:01, '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:03:01, '11:04:01
DQA1*: '03:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '03:02:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:03:02, '01:06:01