

Клетки Wilms6 | 300415

Обща информация

Description

Клетъчната линия Wilms6 е създадена от първичен тумор на Wilms при педиатричен пациент със зародишна мутация на WT1. Тази клетъчна линия се определя от хомозиготна nonsense мутация в гена WT1 (с.1168 C>T, р.R390X), която води до съкратен и нефункционален протеин WT1. WT1 е критичен регулатор на развитието на бъбреците и загубата му е силно свързана с тумора на Вилмс, особено в случаите с мезенхимна диференциация. Клетъчната линия Wilms6 е важен модел за изучаване на туморогенните ефекти на пълната загуба на WT1, особено в контекста на тумори, които проявяват както епителни, така и мезенхимни характеристики.

Клетките Wilms6 носят и мутация в гена CTNNB1, която засяга конкретно серин 45 (р.S45F), ключово място за фосфорилиране, което регулира разграждането на β -Катенин. Тази мутация води до стабилизиране и ядрено натрупване на β -Catenin, което води до конститутивно активиране на сигналния път на Wnt. Аберантното активиране на Wnt сигнализацията е известен двигател на клетъчната пролиферация и туморогенезата при туморите на Wilms, което прави Wilms6 ценен инструмент за изследване на ролята на дисрегулацията на Wnt пътя при тумори с мутации на WT1.

Фенотипно клетките Wilms6 показват мезенхимна морфология със силна експресия на виментин и липса на епителни маркери като цитокератин, което отразява стромалната природа на първоначалния тумор. Доказано е, че тези клетки притежават ограничен, но забележителен потенциал за диференциация, включително способността да се диференцират в мускулоподобни клетки при специфични условия, което отразява мезенхимната диференциация, наблюдавана при някои тумори на Wilms. Протеомичните изследвания на тумори на Wilms6 са установили активирането на множество рецепторни тирозинкинази (RTK), включително PDGFR β и AXL, които участват в подпомагането на оцеляването, пролиферацията и миграцията на клетките. Активирането надолу по веригата на сигнални пътища като MAPK и PI3K/AKT допълнително подчертава агресивния характер на тази клетъчна линия.

Като цяло клетъчната линия Wilms6 служи като важен модел за изследване на молекулярните механизми, които са в основата на развитието на тумора на Wilms, особено в случаите на пълна загуба на WT1, съчетана с активиране на Wnt сигналите. Нейните генетични и фенотипни характеристики я превръщат в отлична платформа за изучаване на взаимодействието между недостига на WT1 и аберантните сигнални пътища, което дава представа за потенциални терапевтични цели за този агресивен тип тумор.

Organism Човек

Tissue Бъбреци

Disease Тумор на Вилмс

Applications Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания

Характеристики

Age 15 месеца

Клетки Wilms6 | 300415

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

Регулаторни данни

Citation	Wilms6 (каталожен номер 300415 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SI

Биомолекулярни данни

Mutational profile	Статус на мутация на WT1: хомозиготна c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, статус на мутация на CTNNB1: хомозиготна del TCT, p.DS45
---------------------------	---

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 ресуспендирайте, 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 Wilms6 | 300415**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 Wilms6 | 300415**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 микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

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

HLA алели

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