Product sheet

Клетки Wilms11 | 300420

Обща информация

Description	Клетъчната линия Wilms11 е получена от първичен тумор на Wilms (нефробластом) при педиатричен пациент. За разлика от много други клетъчни линии на тумори на Wilms, Wilms11 се характеризира с наличието на див тип WT1, което означава, че не съдържа мутации в гена WT1, които обикновено се свързват с тумори на Wilms, проявяващи по-агресивни или стромални фенотипове. Въпреки това туморът Wilms11 показва значителна стромална диференциация с големи области на рабдомиоматозна диференциация, което показва мезенхимни елементи в тумора. Наличието на WT1 от див тип, съчетано със стромалната диференциация на тумора, предоставя уникален модел за разбиране на биологията на туморите на Wilms в случаите, когато липсват мутации на WT1. Генетичните изследвания на Wilms11 показаха, че тази клетъчна линия е носител на специфична за тумора мутация в CTNNB1, гена, кодиращ β-Catenin, който играе ключова роля в сигналния път на Wnt. При Wilms11 тази мутация засяга серин 45, ключово място за фосфорилиране, което участва в разграждането на β-Catenin. Мутацията на CTNNB1 води до стабилизиране на β-Катенин, което води до неговото натрупване и конститутивно активиране на сигналния път на Wnt, който е двигател на клетъчната пролиферация и туморогенезата. Това прави Wilms11 важен модел за изучаване на взаимодействието между Wnt сигнализацията и развитието на тумора на Wilms, особено в случаите, когато WT1 остава непокътнат. Протеомичните анализи на Wilms11 разкриха активирането на няколко рецепторни тирозинкинази (RTK), включително PDGFRβ и AXL, които участват в стимулирането на растежа и оцеляването на туморните клетки. Низходящите сигнални пътища, като MAPK и PI3K/AKT, също се активират в клетките Wilms11, допринасяйки за тяхното туморогенно поведение. Способността на клетките Wilms11 да се подлагат на мезенхимна диференциация, особено на рабдомиоматозна диференциация, подчертава потенциала им като модел за изучаване на мезенхимните компоненти на тумора на Wilms. Като цяло Wilms11 служи като ценен инструмент за изследване на молекулярните механизми, които стимулират туморогенезата на Wilms при липса на мутации на WT1, но в контекста на активиране на пътя на Wnt.
Organism	Човек
Tissue	Бъбреци
Disease	Тумор на Вилмс
Applications	Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания

Характеристики

Age	22 месеца
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки

Клетки Wilms11 | 300420

Morphology	С форма на вретено
Cell type	Клетки на Вилмс
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	Wilms11 (каталожен номер 300420 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SM

Биомолекулярни данни

Mutational profile	Статус на мутация на WT1: хомозиготен WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . Статус на мутацията 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.
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 Wilms11 | 300420

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 °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 антимикробен агент с температура 37 °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 разбъркате 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°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

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.

Клетки Wilms11 | 300420

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.