Product sheet

Клетки Wilms8 | 300416

Обща информация

Description	Клетъчната линия Wilms8 е получена от първичен тумор на Wilms при педиатричен пациент със зародишна мутация на WT1. Тази клетъчна линия се характеризира с хомозиготна nonsense мутация в гена WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), която води до пълна загуба на функцията на WT1. WT1 е от решаващо значение за нормалното развитие на бъбреците, а инактивирането му е обща характеристика при някои агресивни подтипове на тумора на Wilms, особено тези, които проявяват мезенхимна диференциация. Следователно Wilms8 представлява ценен модел за изучаване на ефектите от загубата на WT1 върху туморогенезата, особено в контекста на туморите на Wilms, които възникват с ясно изразен стромален компонент. В допълнение към мутацията на WT1, клетките Wilms8 съдържат мутация в гена CTNNB1 (p.S45A), който кодира β-Катенин, ключов регулатор на сигналния път на Wnt. Мутацията на серин 45 нарушава нормалния процес на фосфорилиране, който води до разграждане на β-Catenin, като води до неговото стабилизиране и натрупване в ядрото. Това води до конститутивно активиране на Wnt сигнализацията, която стимулира клетъчната пролиферация и допринася за онкогенните свойства на клетъчната линия Wilms8. Взаимодействието между загубата на WT1 и аберантната Wnt сигнализация при Wilms8 я превръща в ключов модел за разбиране на молекулярните механизми, лежащи в основата на тези пътища в туморната биология на Wilms. Клетките Wilms8 показват мезенхимен фенотип, характеризиращ се с експресия на виментин и липса на епителни маркери като цитокератин. Това съответства на стромалната диференциация, наблюдавана в оригиналния тумор. Клетките демонстрират ограничена способност за по-нататъшна мезенхимна диференциация, като например образуване на мускулоподобни клетки при специфични условия. Протеомичните анализи на Wilms8 разкриват активирането на множество рецепторни тирозинкинази (RTKs), включително PDGFRβ и AXL, които участват в ключови процеси като оцеляване, миграция и пролиферация на клетките. Активирането на сигналните пътища надолу по веригата, особено на MAPK и PI3K/AKT, допълнително допринася за агресивните характеристики на клетките Wilms8. Като цяло клетъчната линия Wilms8 служи като важен инструмент за изследване на молекулярната основа на тумора на Wilms, причинен от загубата на WT1 и аберантната Wnt сигнализация. Нейните генетични и фенотипни характеристики я превръщат в надеждна платформа за изследване на взаимодействието между тези критични пътища и за идентифициране на потенциални терапевтични цели при тумори на Wilms със стромален компонент.
Organism	Човек
Tissue	Бъбреци
Disease	Тумор на Вилмс
Applications	Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания

Характеристики

Age	8 месеца

Клетки Wilms8 | 300416

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

Регулаторни данни

Citation	Wilms8 (каталожен номер 300416 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SJ

Биомолекулярни данни

Mutational profile	Статус на мутацията на WT1: хомозиготна c.1168C>T, p.390x, LOH: , статус на мутацията на CTNNB1: хетерозиготна TCT>GCT, p.S45A

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 Wilms8 | 300416

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 °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**.

Клетки Wilms8 | 300416

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***: '02:01:01, '03:01:01 **B***: '15:01:01, '37:01:01 **C***: '04:01:01, '06:02:01 **DRB1***: '08:01:01G, '11:01:01 **DQA1***: '04:01:01, '05:05:01 **DQB1***: '03:01:01, '04:02:01 **DPB1***: '03:01:01, '06:01:01 **E**: '01:03:02