

Wilms1-celler | 300411**Generel information****Description**

Wilms1-cellelinjen stammer fra en primær Wilms-tumorprøve fra en patient med store bilaterale nyretumorer, der tyder på Wilms-tumor, et pædiatrisk nefroblastom. Denne cellelinje har en homozygot nonsensmutation i WT1-genet (c.149 C>A, p.S50X), som resulterer i et afkortet og ikke-funktionelt WT1-protein. WT1-genet, der er afgørende for nyrenes udvikling og funktion, er ofte muteret i Wilms-tumorer, især i dem med en stromal subtype, der udviser ektopisk mesenkymal differentiering. Wilms1-celler repræsenterer derfor en unik in vitro-model til undersøgelse af konsekvenserne af tab af WT1-funktion i tumorbiologi.

Wilms1-cellelinjen opretholder en stabil karyotype uden væsentlige kromosomale abnormiteter, hvilket giver mulighed for pålidelig langtidskultur. Disse celler udviser en mesenkymal fænotype, der er karakteriseret ved ekspresion af vimentin og fravær af epitelmarkører som cytokeratin, hvilket er i overensstemmelse med deres stromale oprindelse. Derudover viser cellelinjen en begrænset, men bemærkelsesværdig mesenkymal differentieringskapacitet, herunder evnen til at differentiere sig til muskellignende celler under passende forhold. Det gør Wilms1 til et uvurderligt værktøj til at undersøge de molekylære mekanismer for mesenkymal differentiering og dens deregulering i Wilms-tumorens patogenese.

Wilms1 er også blevet brugt til at undersøge aktiveringsstatus for vigtige signalveje, der er involveret i tumorprogression. Proteomiske analyser har vist, at Wilms1-celler udviser fosforylering og aktivering af flere receptortyrosinkinaser, herunder EGFR og PDGFR β , samt downstream MAPK-signalveje. Disse resultater fremhæver relevansen af Wilms1-cellelinjen i udforskningen af målrettede terapeutiske tilgange til Wilms-tumor ved at dissekere disse vejes rolle i kræftcellers overlevelse, spredning og differentiering.

Organism Menneske**Tissue** Nyre**Applications** In vitro-cellekulturmodel. Biokemiske undersøgelser**Synonyms** Wilms1-2l**Karakteristika****Age** 2 år**Gender** Kvinde**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Spindelformet**Cell type** Wilms-celler

Wilms1-celler | 300411

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation Wilms1 (Cytion katalognummer 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Biomolekylære data

Receptors expressed Receptor-tyrosinkinaser EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Yees, i nøgne mus. Danner tumor med små celler i overensstemmelse med Wilms' tumor (xenotransplantater repræsenterer muligvis ikke Wilms' tumorer fuldstændigt, se E. Kuncce Stroup 2017)

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

Mutational profile WT1-mutationsstatus: homozygot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: heterozygot TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normal

Håndtering

Culture Medium MSCGM-kit (fra Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 timer

Wilms1-celler | 300411

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 1 til 2 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Hurtig

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Wilms1-celler | 300411

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Wilms1-celler | 300411

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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