

Wilms10T-celler | 300417

Generel information

Description

Wilms10T-cellelinjen stammer fra en primær Wilms-tumorprøve fra en patient med Wilms-tumor, et pædiatrisk nefroblastom. Denne cellelinje er karakteriseret ved en homozygot deletion af WT1-genet, hvilket fører til et fuldstændigt tab af WT1-funktion, et kritisk gen, der er involveret i nyreudvikling og opretholdelse af normal nyredifferentiering. I modsætning til mange andre Wilms-tumorcellelinjer mangler Wilms10T ethvert udtryk af WT1-protein, hvilket afspejler de alvorlige genetiske ændringer, der er til stede i denne tumorsubtype. Derudover udviser Wilms10T-cellelinjen tab af heterozygoti (LOH) i 11p15-kromosomregionen, som omfatter vigtige gener som IGF2, hvilket yderligere bidrager til dens tumorigeniske egenskaber.

Wilms10T-celler har en stabil normal karyotype uden større kromosomale omlejninger bortset fra den specifikke deletion af WT1-regionen. Denne cellelinje er blevet brugt i stor udstrækning til at studere virkningerne af komplet WT1-tab på tumorbiologi, herunder dens indvirkning på celleproliferation, differentiering og respons på forskellige signalveje. Cellerne bevarer mesenkymale egenskaber og udtrykker markører som vimentin, mens de mangler epitelmarkører som cytokeratin, hvilket indikerer deres stromale oprindelse.

Betydelig forskning har fokuseret på de signalveje, der er aktive i Wilms10T-celler. Proteomiske undersøgelser har vist, at disse celler viser aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er) som IGF1R, PDGFR β og AXL, som er kendt for at drive tumorigenese. Derudover aktiveres downstream-signalveje, herunder MAPK- og PI3K/AKT-veje, i Wilms10T-celler, hvilket bidrager til deres aggressive tumorfænotype. Den omfattende karakterisering af Wilms10T gør den til en værdifuld model til at undersøge det molekylære grundlag for Wilms-tumor med komplet WT1-tab samt til at udforske potentielle terapeutiske mål i denne aggressive tumorundertype.

Organism Menneske

Tissue Nyre

Disease Wilms-tumor

Applications In vitro-cellekulturmodel og biokemiske undersøgelser

Synonyms Wilms10

Karakteristika

Age 2 år

Gender Kvinde

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformet

Wilms10T-celler | 300417**Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** Wilms10T (Cytion katalognummer 300417)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Biomolekylære data****Mutational profile** WT1-mutationsstatus: homozygot del WT1 inden for del11p13. LOH: ingen i 11p13, men UPD i 11p15. CTNNB1-mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Håndtering****Culture Medium** MSCGM-kit (fra Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 46 timer**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, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 4×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 1 til 2 gange om ugen

Wilms10T-celler | 300417

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium 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 kryoinduceret stress.

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.

Wilms10T-celler | 300417

Shipping Conditions

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

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*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '18:01:01, '27:05:02
C*: '01:02:01, '12:03:01
DRB1*: '01:01:01, '11:04:01
DQA1*: '01:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01