

Wilms6-celler | 300415

Generel information

Description

Wilms6-cellelinjen blev etableret fra en primær Wilms-tumor hos en pædiatrisk patient med en germline WT1-mutation. Denne cellelinje er defineret af en homozygot nonsensmutation i WT1-genet (c.1168 C>T, p.R390X), som resulterer i et afkortet og ikke-funktionelt WT1-protein. WT1 er en kritisk regulator for nyreudvikling, og tabet af det er stærkt forbundet med Wilms-tumor, især i tilfælde, der viser mesenkymal differentiering. Wilms6-cellelinjen er en vigtig model til at studere de tumorigeniske effekter af komplet WT1-tab, især i forbindelse med tumorer, der udviser både epiteliale og mesenkymale egenskaber.

Wilms6-celler bærer også en mutation i CTNNB1-genet, der specifikt påvirker serin 45 (p.S45F), et vigtigt sted for fosforylering, der regulerer β -Catenin-nedbrydningen. Denne mutation fører til stabilisering og nuklear ophobning af β -Catenin, hvilket resulterer i en konstitutiv aktivering af Wnt-signalvejen. Den afvigende aktivering af Wnt-signalering er en kendt drivkraft for celleproliferation og tumorigenese i Wilms-tumorer, hvilket gør Wilms6 til et værdifuldt værktøj til at undersøge den rolle, som dysregulering af Wnt-signalvejen spiller i tumorer med WT1-mutationer.

Fænotypisk udviser Wilms6-celler en mesenkym-morfologi med stærk ekspresion af vimentin og fravær af epitelmarkører som cytokeratin, hvilket afspejler den oprindelige tumors stromale natur. Disse celler har vist sig at have et begrænset, men bemærkelsesværdigt differentieringspotentiale, herunder evnen til at differentiere til muskellignende celler under specifikke forhold, hvilket afspejler den mesenkymale differentiering, der er observeret i nogle Wilms-tumorer. Proteomiske studier af Wilms6 har identificeret aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er), herunder PDGFR β og AXL, som er involveret i at fremme celleoverlevelse, spredning og migration. Den efterfølgende aktivering af signalveje som MAPK og PI3K/AKT understreger yderligere den aggressive karakter af denne cellelinje.

Samlet set fungerer Wilms6-cellelinjen som en afgørende model til at udforske de molekylære mekanismer, der ligger til grund for udviklingen af Wilms-tumorer, især i tilfælde af komplet WT1-tab kombineret med aktivering af Wnt-signalering. Dens genetiske og fænotypiske egenskaber gør den til en fremragende platform til at studere samspillet mellem WT1-mangel og afvigende signalveje, hvilket giver indsigt i potentielle terapeutiske mål for denne aggressive tumortype.

Organism	Menneske
Tissue	Nyre
Disease	Wilms-tumor
Applications	In vitro-cellekulturmodel. Biokemiske undersøgelser

Karakteristika

Age	15 måneder
Gender	Mand

Wilms6-celler | 300415

Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Spindelformet
Cell type	Wilms-celler
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	Wilms6 (Cytion katalognummer 300415)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SI

Biomolekylære data

Mutational profile	WT1-mutationsstatus: homozygot c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45
---------------------------	---

Håndtering

Culture Medium	MSCGM-kit (fra Lonza)
Dissociation Reagent	Accutase

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.
---------------------	---

Wilms6-celler | 300415

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.

Wilms6-celler | 300415

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*: '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