

Wilms11-celler | 300420

Generel information

Description

Wilms11-cellelinjen stammer fra en primær Wilms-tumor (nefroblastom) hos en pædiatrisk patient. I modsætning til mange andre Wilms-tumorcellelinjer er Wilms11 karakteriseret ved tilstedeværelsen af vildtype-WT1, hvilket betyder, at den ikke indeholder mutationer i WT1-genet, som typisk er forbundet med Wilms-tumorer, der udviser mere aggressive eller stromale fænotyper. Wilms11-tumoren udviste dog betydelig stromal differentiering med store områder af rhabdomyomatøs differentiering, hvilket tyder på mesenkymale elementer i tumoren. Tilstedeværelsen af vildtype-WT1 kombineret med tumorens stromale differentiering giver en unik model til at forstå Wilms-tumorbiologi i tilfælde, hvor WT1-mutationer er fraværende.

Genetiske undersøgelser af Wilms11 har vist, at denne cellelinje bærer en tumorspecifik mutation i CTNNB1, genet der koder for β -Catenin, som spiller en afgørende rolle i Wnt-signalvejen. I Wilms11 påvirker denne mutation serin 45, et vigtigt fosforyleringssted, der er involveret i nedbrydningen af β -Catenin. CTNNB1-mutationen resulterer i stabilisering af β -Catenin, hvilket fører til ophobning og konstitutiv aktivering af Wnt-signalvejen, som er en drivkraft for celleproliferation og tumorigenese. Det gør Wilms11 til en vigtig model til undersøgelse af samspillet mellem Wnt-signaler og Wilms-tumorudvikling, især i tilfælde, hvor WT1 forbliver intakt.

Proteomiske analyser af Wilms11 har afsløret aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er), herunder PDGFR β og AXL, som er involveret i at drive tumorcellevækst og -overlevelse. Downstream-signalveje, såsom MAPK- og PI3K/AKT-veje, aktiveres også i Wilms11-celler, hvilket bidrager til deres tumorigeniske adfærd. Wilms11-cellernes evne til at gennemgå mesenkymal differentiering, især rhabdomyomatøs differentiering, fremhæver deres potentiale som en model til undersøgelse af de mesenkymale komponenter i Wilms-tumor. Samlet set fungerer Wilms11 som et værdifuldt værktøj til at undersøge de molekylære mekanismer, der driver Wilms-tumorigenese i fravær af WT1-mutationer, men i forbindelse med aktivering af Wnt-vejen.

Organism Menneske

Tissue Nyre

Disease Wilms-tumor

Applications In vitro-cellekulturmodel. Biokemiske undersøgelser

Karakteristika

Age 22 måneder

Gender Mand

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformet

Wilms11-celler | 300420**Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** Wilms11 (Cytion katalognummer 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM**Biomolekylære data****Mutational profile** WT1-mutationsstatus: homozygot WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1 mutationsstatus: vildtype**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, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**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 kryoinduceret stress.

Wilms11-celler | 300420

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.

Wilms11-celler | 300420

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.