

Sel Wilms1 | 300411

Informasi umum

Description

Garis sel Wilms1 berasal dari sampel tumor Wilms primer yang diperoleh dari pasien yang datang dengan tumor ginjal bilateral besar, yang mengindikasikan tumor Wilms, nefroblastoma pediatrik. Garis sel ini memiliki mutasi omong kosong homozigot pada gen WT1 (c.149 C>A, p.S50X), yang menghasilkan protein WT1 yang terpotong dan tidak berfungsi. Gen WT1, yang sangat penting untuk perkembangan dan fungsi ginjal, sering mengalami mutasi pada tumor Wilms, terutama pada tumor dengan subtype stroma yang menunjukkan diferensiasi mesenkim ektopik. Oleh karena itu, sel Wilms1 mewakili model in vitro yang unik untuk mempelajari konsekuensi hilangnya fungsi WT1 dalam biologi tumor.

Garis sel Wilms1 mempertahankan kariotipe yang stabil tanpa kelainan kromosom yang signifikan, memungkinkan kultur jangka panjang yang andal. Sel-sel ini menunjukkan fenotipe mesenkim, yang ditandai dengan ekspresi vimentin dan tidak adanya penanda epitel seperti sitokeratin, konsisten dengan asal stroma mereka. Selain itu, garis sel menunjukkan kapasitas diferensiasi mesenkim yang terbatas tetapi penting, termasuk kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel seperti otot dalam kondisi yang sesuai. Hal ini membuat Wilms1 menjadi alat yang sangat berharga untuk menyelidiki mekanisme molekuler diferensiasi mesenkim dan deregulasinya dalam patogenesis tumor Wilms.

Wilms1 juga telah digunakan untuk mempelajari status aktivasi jalur pensinyalan utama yang terlibat dalam perkembangan tumor. Analisis proteomik telah menunjukkan bahwa sel Wilms1 menunjukkan fosforilasi dan aktivasi beberapa reseptor tirosin kinase, termasuk EGFR dan PDGFR β , serta jalur pensinyalan MAPK hilir. Temuan ini menyoroti relevansi garis sel Wilms1 dalam mengeksplorasi pendekatan terapeutik yang ditargetkan untuk tumor Wilms dengan membedakan peran jalur ini dalam kelangsungan hidup, proliferasi, dan diferensiasi sel kanker.

Organism Manusia

Tissue Ginjal

Applications Model kultur sel in vitro. Studi biokimia

Synonyms Wilms1-2l

Karakteristik

Age 2 tahun

Gender Perempuan

Ethnicity Kaukasia

Morphology Berbentuk gelendong

Cell type Sel Wilms

Sel Wilms1 | 300411

Growth properties Patuh

Data Peraturan

Citation Wilms1 (nomor katalog Cytion 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Data Biomolekuler

Receptors expressed Kinase tirosin reseptor EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, Axl

Tumorigenic Ya, pada tikus telanjang. Membentuk tumor dengan sel-sel kecil yang konsisten dengan tumor Wilms (xenografts mungkin tidak mewakili tumor Wilms sepenuhnya, lihat E. Kuncze Stroup 2017)

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

Mutational profile Status mutasi WT1: homozigot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, status mutasi CTNNB1: heterozigot TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normal

Penanganan

Culture Medium Kit MSCGM (dari Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 jam

Sel Wilms1 | 300411

Subculturing Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Seeding density 1×10^4 sel/cm²

Fluid renewal 1 hingga 2 kali per minggu

Post-Thaw Recovery Cepat

Freeze medium Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel Wilms1 | 300411

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel Wilms1 | 300411

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Alel HLA

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