

Sel Wilms6 | 300415

Informasi umum

Description

Garis sel Wilms6 dibuat dari tumor Wilms primer pada pasien anak dengan mutasi gen WT1. Garis sel ini ditentukan oleh mutasi omong kosong homozigot pada gen WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), yang menghasilkan protein WT1 yang terpotong dan tidak berfungsi. WT1 adalah pengatur perkembangan ginjal yang penting, dan kehilangannya sangat terkait dengan tumor Wilms, terutama pada kasus-kasus yang menunjukkan diferensiasi mesenkim. Garis sel Wilms6 adalah model penting untuk mempelajari efek tumorigenik dari hilangnya WT1 secara total, terutama dalam konteks tumor yang menunjukkan karakteristik epitel dan mesenkim.

Sel Wilms6 juga membawa mutasi pada gen CTNNB1, yang secara khusus memengaruhi serin 45 (p.S45F), sebuah situs kunci untuk fosforilasi yang mengatur degradasi β -Catenin. Mutasi ini mengarah pada stabilisasi dan akumulasi nuklir β -Catenin, yang menghasilkan aktivasi konstitutif jalur pensinyalan Wnt. Aktivasi yang menyimpang dari pensinyalan Wnt adalah pendorong proliferasi sel dan tumorigenesis yang diketahui pada tumor Wilms, menjadikan Wilms6 alat yang berharga untuk menyelidiki peran disregulasi jalur Wnt pada tumor dengan mutasi WT1.

Secara fenotipik, sel Wilms6 menunjukkan morfologi mesenkim, dengan ekspresi vimentin yang kuat dan tidak adanya penanda epitel seperti sitokeratin, yang mencerminkan sifat stroma tumor asli. Sel-sel ini telah terbukti memiliki potensi diferensiasi yang terbatas tetapi penting, termasuk kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel seperti otot dalam kondisi tertentu, yang mencerminkan diferensiasi mesenkim yang diamati pada beberapa tumor Wilms. Studi proteomik Wilms6 telah mengidentifikasi aktivasi beberapa reseptor tirosin kinase (RTK), termasuk PDGFR β dan AXL, yang terlibat dalam meningkatkan kelangsungan hidup, proliferasi, dan migrasi sel. Aktivasi hilir jalur pensinyalan seperti MAPK dan PI3K / AKT semakin menggarisbawahi sifat agresif dari garis sel ini.

Secara keseluruhan, garis sel Wilms6 berfungsi sebagai model penting untuk mengeksplorasi mekanisme molekuler yang mendasari perkembangan tumor Wilms, terutama dalam kasus hilangnya WT1 lengkap yang dikombinasikan dengan aktivasi pensinyalan Wnt. Karakteristik genetik dan fenotipiknya menjadikannya platform yang sangat baik untuk mempelajari interaksi antara defisiensi WT1 dan jalur pensinyalan yang menyimpang, memberikan wawasan tentang target terapeutik potensial untuk jenis tumor agresif ini.

Organism Manusia

Tissue Ginjal

Disease Tumor Wilms

Applications Model kultur sel in vitro. Studi biokimia

Karakteristik

Age 15 bulan

Gender Laki-laki

Sel Wilms6 | 300415**Ethnicity** Kaukasia**Morphology** Berbentuk gelendong**Cell type** Sel Wilms**Growth properties** Patuh**Data Peraturan****Citation** Wilms6 (nomor katalog Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Data Biomolekuler****Mutational profile** Status mutasi WT1: homozigot c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, status mutasi CTNNB1: homozigot del TCT, p.DS45**Penanganan****Culture Medium** Kit MSCGM (dari Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**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.

Sel Wilms6 | 300415**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.

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 $300 \times g$ 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.

Sel Wilms6 | 300415

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.

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*: '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