

Wilms10M-cellen | 300418

Algemene informatie

Description

De Wilms10M cellijn is ontstaan uit een uitgezaaide longknobbel van een patiënt met Wilms tumor (nefroblastoom). Net als zijn primaire tumortegenhanger, Wilms10T, wordt de Wilms10M-cellijn gekenmerkt door een homozygote deletie van het WT1-gen, wat resulteert in de volledige afwezigheid van WT1-eiwit. WT1 is essentieel voor de normale ontwikkeling van de nieren en de deletie wordt in verband gebracht met agressiever tumorgedrag, met name in metastatische settings. Daarnaast vertonen Wilms10M cellen verlies van heterozygositeit (LOH) in het 11p15 chromosomale gebied, dat het IGF2 gen bevat, wat verder bijdraagt aan de kwaadaardige eigenschappen van deze cellen.

Wilms10M-cellen hebben een stabiel karyotype zonder belangrijke chromosoomherschikkingen, afgezien van de specifieke deletie van de WT1-regio. Deze cellijn, afkomstig van uitgezaaid weefsel, is bijzonder waardevol voor het bestuderen van de moleculaire mechanismen die metastase in Wilms tumor veroorzaken. De cellen vertonen mesenchymale kenmerken en brengen markers zoals vimentine tot expressie, terwijl epitheliale markers zoals cytokeratine ontbreken, wat duidt op hun oorsprong uit de stromale component van de tumor.

Onderzoek naar Wilms10M heeft zich gericht op de signaalroutes die actief zijn in deze uitgezaaide cellen. Proteomische analyses hebben de activering aangetoond van verschillende receptor tyrosine kinases (RTK's), waaronder IGF1R, PDGFR β en AXL, die betrokken zijn bij het bevorderen van de celoverleving, proliferatie en het metastatisch potentieel. De downstream MAPK- en PI3K/AKT-signalroutes worden ook geactiveerd en spelen een sleutelrol bij het in stand houden van het invasieve en metastatische fenotype van Wilms10M-cellen. Gezien de metastatische oorsprong is Wilms10M een essentieel model voor het begrijpen van de moleculaire gebeurtenissen die ten grondslag liggen aan Wilms tumormetastase en voor het ontwikkelen van gerichte therapeutische strategieën tegen metastatische ziekte.

Organism

Mens

Tissue

Nieren

Disease

Wilms tumor

Applications

In vitro celkweekmodel. Biochemische onderzoeken

Synonyms

Wilms10

Kenmerken

Age

2 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Spilvormig

Wilms10M-cellen | 300418**Cell type** Wilms cellen**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation** Wilms10M (Cytion catalogusnummer 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomoleculaire gegevens****Mutational profile** WT1 mutatiestatus: homozygoot del WT1 binnen del11p13. LOH: geen in 11p13 maar UPD in 11p15. CTNNB1 mutatiestatus: homozygoot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Omgaan met****Culture Medium** MSCGM-kit (van Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Wilms10M-cellen | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Wilms10M-cellen | 300418

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,12
D16S539: 9,10
D5S818: 10,12
D7S820: 11,12
TH01: 8,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,18
D3S1358: 17,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,16
Penta E: 7,10
Penta D: 10,13
D8S1179: 10,15
FGA: 22,24