

Wilms6 Cellen | 300415

Algemene informatie

Description

De Wilms6-celijn is ontstaan uit een primaire Wilms-tumor van een pediatrische patiënt met een kiembaan-WT1-mutatie. Deze celijn wordt gedefinieerd door een homozygote nonsensmutatie in het WT1-gen (c.1168 C>T, p.R390X), die resulteert in een afgekapt en niet-functioneel WT1-eiwit. WT1 is een cruciale regulator van de ontwikkeling van de nier en het verlies ervan is sterk geassocieerd met Wilms tumor, vooral in gevallen met mesenchymale differentiatie. De Wilms6 celijn is een belangrijk model voor het bestuderen van de tumorigene effecten van volledig WT1 verlies, met name in de context van tumoren die zowel epitheliale als mesenchymale kenmerken vertonen.

Wilms6-cellen dragen ook een mutatie in het CTNNB1-gen, specifiek van invloed op serine 45 (p.S45F), een sleutelplaats voor fosforylering die de afbraak van β -Catenine regelt. Deze mutatie leidt tot de stabilisatie en nucleaire accumulatie van β -Catenine, wat resulteert in de constitutieve activering van de Wnt signaalroute. De afwijkende activering van Wnt-signalering is een bekende aanjager van celproliferatie en tumorigenese in Wilms-tumoren, waardoor Wilms6 een waardevol instrument is voor het onderzoeken van de rol van ontregeling van de Wnt-signalering in tumoren met WT1-mutaties.

Fenotypisch vertonen Wilms6-cellen een mesenchymale morfologie, met een sterke expressie van vimentine en afwezigheid van epitheliale markers zoals cytokeratine, wat de stromale aard van de oorspronkelijke tumor weerspiegelt. Er is aangetoond dat deze cellen een beperkt maar opmerkelijk differentiatiepotentieel hebben, waaronder het vermogen om onder specifieke omstandigheden te differentiëren in spierachtige cellen, wat de mesenchymale differentiatie weerspiegelt die in sommige Wilms-tumoren wordt waargenomen. Proteomische studies van Wilms6 hebben de activering van meerdere receptor tyrosine kinases (RTK's) geïdentificeerd, waaronder PDGFR β en AXL, die betrokken zijn bij de bevordering van celoverleving, proliferatie en migratie. De downstream activering van signaalroutes zoals MAPK en PI3K/AKT onderstreept de agressieve aard van deze celijn.

Over het geheel genomen dient de Wilms6 celijn als een cruciaal model voor het onderzoeken van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van Wilms tumoren, met name in gevallen van volledig WT1 verlies in combinatie met Wnt signaleringsactivatie. De genetische en fenotypische eigenschappen maken het een uitstekend platform voor het bestuderen van de wisselwerking tussen WT1-deficiëntie en afwijkende signaalwegen, wat inzicht geeft in potentiële therapeutische doelwitten voor dit agressieve tumortype.

Organism Mens

Tissue Nieren

Disease Wilms tumor

Applications In vitro celkweekmodel. Biochemische onderzoeken

Kenmerken

Age 15 maanden

Wilms6 Cellen | 300415

Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Spilvormig
Cell type	Wilms cellen
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	Wilms6 (Cytion catalogusnummer 300415)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SI
Depositor	B. Royer-Pokora

Biomoleculaire gegevens

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

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

Wilms6 Cellen | 300415

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (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.

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°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.

Wilms6 Cellen | 300415

Shipping Conditions

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

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: 8,11
D16S539: 9,11
D5S818: 8,9
D7S820: 8,11
TH01: 9,9
TPOX: 11,11
vWA: 16,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,30
D18S51: 12,16
Penta E: 8,13
Penta D: 11,11
D8S1179: 11,13
FGA: 22,23

HLA-allelen

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