

Wilms8 Cellen | 300416

Algemene informatie

Description

De Wilms8-celijn is afgeleid van een primaire Wilms-tumor van een pediatrische patiënt met een kiembaan-WT1-mutatie. Deze celijn wordt gekenmerkt door een homozygote nonsensmutatie in het WT1-gen (c.1168 C>T, p.R390X), die leidt tot een volledig verlies van de WT1-functie. WT1 is cruciaal voor de normale ontwikkeling van de nier en de inactivatie ervan komt vaak voor bij bepaalde agressieve subtypes van Wilms tumoren, met name die met mesenchymale differentiatie. Wilms8 biedt daarom een waardevol model voor het bestuderen van de effecten van WT1-verlies op tumorigenese, vooral in de context van Wilms-tumoren die ontstaan met een uitgesproken stromale component.

Naast de WT1-mutatie hebben Wilms8-cellen een mutatie in het CTNNB1-gen (p.S45A), dat codeert voor β -Catenine, een belangrijke regulator van de Wnt-signaleringsroute. De mutatie op serine 45 verstoort het normale fosforyleringsproces dat leidt tot degradatie van β -Catenine, waardoor het stabiliseert en zich ophoopt in de celkern. Dit resulteert in de constitutieve activering van Wnt signalering, die de celproliferatie aanstuurt en bijdraagt aan de oncogene eigenschappen van de Wilms8 celijn. De wisselwerking tussen het verlies van WT1 en afwijkende Wnt signalering in Wilms8 maakt het een cruciaal model voor het begrijpen van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan deze pathways in de biologie van Wilms tumoren.

Wilms8-cellen vertonen een mesenchymaal fenotype, gekenmerkt door de expressie van vimentine en de afwezigheid van epitheliale markers zoals cytokeratine. Dit komt overeen met de stromale differentiatie die werd waargenomen in de oorspronkelijke tumor. De cellen laten een beperkt vermogen zien om verdere mesenchymale differentiatie te ondergaan, zoals het vormen van spierachtige cellen onder specifieke omstandigheden. Proteomische analyses van Wilms8 hebben de activering van meerdere receptor tyrosine kinases (RTK's) aangetoond, waaronder PDGFR β en AXL, die betrokken zijn bij belangrijke processen zoals celoverleving, migratie en proliferatie. De activering van downstream signaalroutes, met name de MAPK en PI3K/AKT routes, draagt verder bij aan de agressieve eigenschappen van Wilms8 cellen.

Over het geheel genomen dient de Wilms8 celijn als een essentieel hulpmiddel voor het onderzoeken van de moleculaire basis van Wilms tumor, gedreven door WT1 verlies en afwijkende Wnt signalering. De genetische en fenotypische eigenschappen maken het een robuust platform voor het bestuderen van de interactie tussen deze cruciale pathways en voor het identificeren van potentiële therapeutische targets in Wilms tumoren met een stromale component.

Organism Mens

Tissue Nieren

Disease Wilms tumor

Applications In vitro celkweekmodel. Biochemische onderzoeken

Kenmerken

Age 8 maanden

Gender Mannelijk

Wilms8 Cellen | 300416**Ethnicity** Kaukasisch**Morphology** Spilvormig**Cell type** Wilms cellen**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation** Wilms8 (Cytion catalogusnummer 300416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SJ**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomoleculaire gegevens****Mutational profile** WT1 mutatiestatus: homozygoot c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1 mutatiestatus: heterozygoot TCT>GCT, p.S45A**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 centrifugeren 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.

Wilms8 Cellen | 300416

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.

Wilms8 Cellen | 300416

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: 8,9
D16S539: 13,13
D5S818: 12,13
D7S820: 8,10
TH01: 8,8
TPOX: 8,9
vWA: 18,18
D3S1358: 16,18
D21S11: 29,33.2
D18S51: 12,12
Penta E: 12,17
Penta D: 10,12
D8S1179: 8,13
FGA: 20,21

HLA-allelen

A*: '02:01:01, '03:01:01
B*: '15:01:01, '37:01:01
C*: '04:01:01, '06:02:01
DRB1*: '08:01:01G, '11:01:01
DQA1*: '04:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '04:02:01
DPB1*: '03:01:01, '06:01:01
E: '01:03:02