

Wilms10M-celler | 300418

Generell informasjon

Description

Wilms10M-cellelinjen ble etablert fra en metastatisk lungeknute fra en pasient med Wilms-svulst (nefroblastom). I likhet med sin primære motpart, Wilms10T, er Wilms10M-cellelinjen karakterisert av en homozygot delesjon av WT1-genet, noe som resulterer i et fullstendig fravær av WT1-protein. WT1 er essensielt for normal nyreutvikling, og delesjonen er assosiert med mer aggressiv tumoradferd, særlig i metastaserende miljøer. I tillegg viser Wilms10M-celler tap av heterozygositet (LOH) i kromosomregion 11p15, som inkluderer IGF2-genet, noe som ytterligere bidrar til disse cellenes ondartede egenskaper.

Wilms10M-celler opprettholder en stabil karyotype uten større kromosomale rearrangementer bortsett fra den spesifikke deletjonen av WT1-regionen. Denne cellelinjen, som stammer fra metastatisk vev, er spesielt verdifull for å studere de molekylære mekanismene som driver metastasering i Wilms-svulster. Cellene har mesenkymale egenskaper og uttrykker markører som vimentin, mens de mangler epitelmarkører som cytokeratin, noe som tyder på at de stammer fra den stromale komponenten i svulsten.

Forskningen på Wilms10M har fokusert på signalveiene som er aktive i disse metastatiske cellene. Proteomanalyser har vist aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), inkludert IGF1R, PDGFR β og AXL, som er involvert i å fremme celleoverlevelse, spredning og metastatisk potensial. De nedstrøms MAPK- og PI3K/AKT-signalveiene aktiveres også, noe som spiller en nøkkelrolle i opprettholdelsen av Wilms10M-cellenes invasive og metastatiske fenotype. På grunn av sin metastatiske opprinnelse er Wilms10M en viktig modell for å forstå de molekylære hendelsene som ligger til grunn for metastasering av Wilms-svulster, og for å utvikle målrettede terapeutiske strategier mot metastatisk sykdom.

Organism Menneskelig

Tissue Nyre

Disease Wilms-svulst

Applications In vitro-cellekulturmodell. Biokjemiske studier

Synonyms Wilms10

Kjennetegn

Age 2 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformet

Wilms10M-celler | 300418

Cell type Wilms-celler**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** Wilms10M (Cytion katalognummer 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekylære data****Mutational profile** WT1-mutasjonsstatus: homozygot del WT1 innenfor del11p13. LOH: ingen i 11p13, men UPD i 11p15. CTNNB1 mutasjonsstatus: homozygot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Håndtering****Culture Medium** MSCGM-sett (fra Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Wilms10M-celler | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Wilms10M-celler | 300418

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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