

Wilms1-celler | 300411

Generell informasjon

Description

Wilms1-cellelinjen ble avledet fra en primær Wilms-svulstprøve fra en pasient med store bilaterale nyresvulster, noe som tyder på Wilms-svulst, et pediatrik nefroblastom. Denne cellelinjen har en homozygot nonsensmutasjon i WT1-genet (c.149 C>A, p.S50X), noe som resulterer i et avkortet og ikke-funksjonelt WT1-protein. WT1-genet, som er kritisk for nyrenes utvikling og funksjon, er ofte mutert i Wilms-svulster, særlig i dem med en stromal subtype som viser ektopisk mesenkymal differensiering. Wilms1-celler representerer derfor en unik in vitro-modell for å studere konsekvensene av tap av WT1-funksjon i tumorbiologi.

Wilms1-cellelinjen har en stabil karyotype uten signifikante kromosomavvik, noe som gir mulighet for pålitelig langtidsdyrking. Disse cellene har en mesenkymal fenotype, karakterisert ved uttrykk av vimentin og fravær av epitelmarkører som cytokeratin, noe som stemmer overens med deres stromale opprinnelse. I tillegg viser cellelinjen en begrenset, men bemerkelsesverdig mesenkymal differensieringskapasitet, inkludert evnen til å differensiere til muskellignende celler under passende forhold. Dette gjør Wilms1 til et uvurderlig verktøy for å undersøke de molekylære mekanismene for mesenkymal differensiering og dereguleringen av denne i Wilms' svulstpatogenese.

Wilms1 har også blitt brukt til å studere aktiveringsstatusen til viktige signalveier som er involvert i svulstprogresjon. Proteomanalyser har vist at Wilms1-celler viser fosforylering og aktivering av flere reseptortyrosinkinaser, inkludert EGFR og PDGFR β , samt nedstrøms MAPK-signalveier. Disse funnene understreker relevansen av Wilms1-cellelinjen i utforskningen av målrettede terapeutiske tilnærminger for Wilms-svulster ved å dissekere disse signalveienes rolle i kreftcellenes overlevelse, spredning og differensiering.

Organism Menneskelig

Tissue Nyre

Applications In vitro-cellekulturmodell. Biokjemiske studier

Synonyms Wilms1-2l

Kjennetegn

Age 2 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformet

Cell type Wilms-celler

Wilms1-celler | 300411

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation Wilms1 (Cytion katalognummer 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Depositor B. Royer-Pokora

Biomolekylære data

Receptors expressed Reseptortyrosinkinaser EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Ja, i nakne mus. Danner svulst med små celler som er forenlig med Wilms' svulst (xenotransplantater representerer kanskje ikke Wilms' svulster fullstendig, se E. Kuncce Stroup 2017)

Viruses HIV-1: negativ, HBV: negativ, HCV: negativ

Mutational profile WT1-mutasjonsstatus: homozygot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutasjonsstatus: heterozygot TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normal

Håndtering

Culture Medium MSCGM-sett (fra Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 timer

Wilms1-celler | 300411

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, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 1 til 2 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Rask

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

Wilms1-celler | 300411

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 cellepelletten 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.

Wilms1-celler | 300411

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,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11,13
D16S539: 11,14
D5S818: 12,13,14
D7S820: 9,14
TH01: 9,3
TPOX: 8,9
vWA: 14,19
D3S1358: 14,17,18
D21S11: 30,31
D18S51: 15,18
Penta E: 5,14
Penta D: 13
D8S1179: 12,14
FGA: 22,25

HLA-alleler

A*: '03:01:01, '24:02:01
B*: '35:03:01, '38:01:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '07:01:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:03:01, '01:03:02