

Wilms10T-celler | 300417

Generell informasjon

Description

Wilms10T-cellelinjen ble avledet fra en primær Wilms-svulstprøve fra en pasient med Wilms-svulst, et pediatrik nefroblastom. Denne cellelinjen kjennetegnes av en homozygot delesjon av WT1-genet, noe som fører til et fullstendig tap av WT1-funksjonen, et kritisk gen som er involvert i nyreutviklingen og opprettholdelsen av normal nyredifferensiering. I motsetning til mange andre Wilms-svulstcellelinjer mangler Wilms10T ethvert uttrykk av WT1-protein, noe som gjenspeiler de alvorlige genetiske endringene som er til stede i denne svulstsubtypen. I tillegg har Wilms10T-cellelinjen tap av heterozygoti (LOH) i kromosomregion 11p15, som omfatter viktige gener som IGF2, noe som ytterligere bidrar til dens tumorogene egenskaper.

Wilms10T-celler har en stabil normal karyotype uten større kromosomale rearrangementer, bortsett fra den spesifikke deletjonen av WT1-regionen. Denne cellelinjen har blitt brukt i stor utstrekning for å studere effekten av fullstendig WT1-tap på tumorbiologi, inkludert dens innvirkning på celleproliferasjon, differensiering og respons på ulike signalveier. Cellene har mesenkymale egenskaper og uttrykker markører som vimentin, mens de mangler epitelmarkører som cytokeratin, noe som tyder på deres stromale opprinnelse.

Betydelig forskning har fokusert på signalveiene som er aktive i Wilms10T-celler. Proteomstudier har vist at disse cellene viser aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), som IGF1R, PDGFR β og AXL, som er kjent for å drive tumorigenese. I tillegg aktiveres nedstrøms signalveier, inkludert MAPK- og PI3K/AKT-veiene, i Wilms10T-celler, noe som bidrar til deres aggressive tumorfenotype. Den omfattende karakteriseringen av Wilms10T gjør den til en verdifull modell for å undersøke de molekylære forutsetningene for Wilms-svulster med fullstendig WT1-tap, samt for å utforske potensielle terapeutiske mål i denne aggressive tumorsubtypen.

Organism Menneskelig

Tissue Nyre

Disease Wilms-svulst

Applications In vitro-cellekulturmodell og biokjemiske studier

Synonyms Wilms10

Kjennetegn

Age 2 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformet

Wilms10T-celler | 300417**Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** Wilms10T (Cytion katalognummer 300417)**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**Doubling time** 46 timer**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.**Seeding density** 4×10^4 celler/cm²

Wilms10T-celler | 300417

Fluid renewal 1 til 2 ganger per uke

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 osmobybeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

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 dyrkningsmedium. 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.

Wilms10T-celler | 300417**Shipping
Conditions**

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

**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

HLA-alleler

A*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '18:01:01, '27:05:02
C*: '01:02:01, '12:03:01
DRB1*: '01:01:01, '11:04:01
DQA1*: '01:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01