

Wilms6-celler | 300415

Generell informasjon

Description

Wilms6-cellelinjen ble etablert fra en primær Wilms-svulst hos en pediatrik pasient med en germinal WT1-mutasjon. Denne cellelinjen er definert av en homozygot nonsensmutasjon i WT1-genet (c.1168 C>T, p.R390X), noe som resulterer i et avkortet og ikke-funksjonelt WT1-protein. WT1 er en kritisk regulator av nyreutviklingen, og tap av dette proteinet er sterkt assosiert med Wilms-svulst, særlig i tilfeller som viser mesenkymal differensiering. Wilms6-cellelinjen er en viktig modell for å studere de tumorogene effektene av fullstendig tap av WT1, særlig i forbindelse med svulster som har både epiteliale og mesenkymale egenskaper.

Wilms6-celler bærer også en mutasjon i CTNNB1-genet, som spesifikt påvirker serin 45 (p.S45F), et sentralt sted for fosforylering som regulerer nedbrytningen av β -Catenin. Denne mutasjonen fører til stabilisering og kjerneakkumulering av β -Catenin, noe som resulterer i en konstitutiv aktivering av Wnt-signalveien. Avvikende aktivering av Wnt-signalering er en kjent driver for celleproliferasjon og tumorutvikling i Wilms-svulster, noe som gjør Wilms6 til et verdifullt verktøy for å undersøke hvilken rolle dysregulering av Wnt-signalveien spiller i svulster med WT1-mutasjoner.

Fenotypisk sett har Wilms6-celler en mesenkymal morfologi, med sterkt uttrykk av vimentin og fravær av epitelmarkører som cytokeratin, noe som gjenspeiler den opprinnelige svulstens stromale natur. Disse cellene har vist seg å ha et begrenset, men bemerkelsesverdig differensieringspotensial, inkludert evnen til å differensiere til muskellignende celler under spesifikke forhold, noe som gjenspeiler den mesenkymale differensieringen som observeres i noen Wilms-svulster. Proteomstudier av Wilms6 har identifisert aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), inkludert PDGFR β og AXL, som er involvert i å fremme celleoverlevelse, proliferasjon og migrasjon. Nedstrøms aktivering av signalveier som MAPK og PI3K/AKT understreker ytterligere denne cellelinjens aggressive natur.

Wilms6-cellelinjen er en viktig modell for å utforske de molekylære mekanismene som ligger til grunn for utviklingen av Wilms-svulster, særlig i tilfeller med fullstendig tap av WT1 kombinert med aktivering av Wnt-signalering. Cellelinjens genetiske og fenotypiske egenskaper gjør den til en utmerket plattform for å studere samspillet mellom WT1-mangel og avvikende signalveier, noe som gir innsikt i potensielle terapeutiske mål for denne aggressive tumortypen.

Organism Menneskelig

Tissue Nyre

Disease Wilms-svulst

Applications In vitro-cellekulturmodell. Biokjemiske studier

Kjennetegn

Age 15 måneder

Gender Mann

Wilms6-celler | 300415

Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Spindelformet
Cell type	Wilms-celler
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

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

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

Wilms6-celler | 300415

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

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst 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.

Wilms6-celler | 300415**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: 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-alleler

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