

Wilms11-celler | 300420

Generell informasjon

Description

Wilms11-cellelinjen ble avledet fra en primær Wilms-svulst (nefroblastom) hos en pediatrik pasient. I motsetning til mange andre Wilms-svulstcellelinjer er Wilms11 karakterisert ved tilstedeværelsen av villtype WT1, noe som betyr at den ikke har mutasjoner i WT1-genet, som vanligvis er forbundet med Wilms-svulster som viser mer aggressive eller stromale fenotyper. Wilms11-svulsten viste imidlertid betydelig stromal differensiering, med store områder med rbdomyomatøs differensiering, noe som tyder på mesenkymale elementer i svulsten. Tilstedeværelsen av villtype WT1, kombinert med svulstens stromale differensiering, gir en unik modell for å forstå Wilms-svulstens biologi i tilfeller der WT1-mutasjoner er fraværende.

Genetiske studier av Wilms11 har vist at denne cellelinjen bærer en tumorspesifikk mutasjon i CTNNB1, genen som koder for β -Catenin, som spiller en avgjørende rolle i Wnt-signalveien. I Wilms11 påvirker denne mutasjonen serin 45, et viktig fosforyleringssted som er involvert i nedbrytningen av β -Catenin. CTNNB1-mutasjonen fører til stabilisering av β -Catenin, noe som fører til akkumulering og konstitutiv aktivering av Wnt-signalveien, som er en drivkraft for celleproliferasjon og tumorutvikling. Dette gjør Wilms11 til en viktig modell for å studere samspillet mellom Wnt-signaler og utvikling av Wilms-svulster, spesielt i tilfeller der WT1 forblir intakt.

Proteomanalyser av Wilms11 har avdekket aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), inkludert PDGFR β og AXL, som er involvert i å drive tumorcellevekst og -overlevelse. Nedstrøms signalveier, som MAPK- og PI3K/AKT-veiene, aktiveres også i Wilms11-celler, noe som bidrar til deres tumorgeniske atferd. Wilms11-cellenes evne til å gjennomgå mesenkymal differensiering, spesielt rbdomyomatøs differensiering, fremhever deres potensial som modell for å studere de mesenkymale komponentene i Wilms-svulster. Wilms11 er et verdifullt verktøy for å undersøke de molekylære mekanismene som driver Wilms-svulstutvikling i fravær av WT1-mutasjoner, men i sammenheng med aktivering av Wnt-stien.

Organism Menneskelig

Tissue Nyre

Disease Wilms-svulst

Applications In vitro-cellekulturmodell. Biokjemiske studier

Kjennetegn

Age 22 måneder

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformet

Wilms11-celler | 300420**Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** Wilms11 (Cytion katalognummer 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekylære data****Mutational profile** WT1-mutasjonsstatus: homozygot WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1 mutasjonsstatus: villtype**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 kryoinduert stress.

Wilms11-celler | 300420

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.

Wilms11-celler | 300420

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: 10,12
D13S317: 12,12
D16S539: 11,12
D5S818: 12,13
D7S820: 8,9
TH01: 6,6
TPOX: 9,11
vWA: 17,18
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,21
Penta E: 5,7
Penta D: 11,11
D8S1179: 13,13
FGA: 23,26