

Komórki Wilmsa1 | 300411**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Wilms1 została uzyskana z pierwotnej próbki guza Wilmsa uzyskanej od pacjenta z dużymi obustronnymi guzami nerek, wskazującymi na guz Wilmsa, nefroblastomę dziecięcą. Ta linia komórkowa jest nosicielem homozygotycznej mutacji nonsensownej w genie WT1 (c.149 C>A, p.S50X), która skutkuje skróconym i niefunkcyjnym białkiem WT1. Gen WT1, krytyczny dla rozwoju i funkcji nerek, jest często mutowany w guzach Wilmsa, szczególnie w tych z podtypem zrębu, który wykazuje ektopowe różnicowanie mezenchymalne. Komórki Wilms1 stanowią zatem unikalny model in vitro do badania konsekwencji utraty funkcji WT1 w biologii nowotworów.

Linia komórkowa Wilms1 utrzymuje stabilny kariotyp bez znaczących nieprawidłowości chromosomalnych, co pozwala na niezawodną długoterminową hodowlę. Komórki te wykazują fenotyp mezenchymalny, charakteryzujący się ekspresją wimentyny i brakiem markerów nabłonkowych, takich jak cytokeratyna, co jest zgodne z ich zrębowym pochodzeniem. Dodatkowo, linia komórkowa wykazuje ograniczoną, ale znaczącą zdolność różnicowania mezenchymalnego, w tym zdolność do różnicowania się w komórki mięśniopodobne w odpowiednich warunkach. To sprawia, że Wilms1 jest nieocenionym narzędziem do badania molekularnych mechanizmów różnicowania mezenchymalnego i jego deregulacji w patogenezie guza Wilmsa.

Wilms1 został również wykorzystany do badania stanu aktywacji kluczowych szlaków sygnałowych zaangażowanych w progresję nowotworu. Analizy proteomiczne wykazały, że komórki Wilms1 wykazują fosforylację i aktywację kilku receptorowych kinaz tyrozynowych, w tym EGFR i PDGFR β , a także dalszych szlaków sygnałowych MAPK. Odkrycia te podkreślają znaczenie linii komórkowej Wilms1 w badaniu ukierunkowanych podejść terapeutycznych do guza Wilmsa poprzez analizę roli tych szlaków w przeżyciu, proliferacji i różnicowaniu komórek nowotworowych.

Organism Człowiek**Tissue** Nerka**Applications** Model hodowli komórkowej in vitro. Badania biochemiczne**Synonyms** Wilms1-2l**Charakterystyka****Age** 2 lata**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Wrzecionowaty kształt**Cell type** Komórki Wilmsa

Komórki Wilmsa1 | 300411

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation Wilms1 (numer katalogowy Cytion 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Depositor B. Royer-Pokora

Dane biomolekularne

Receptors expressed Receptorowe kinazy tyrozynowe EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Tak, u nagich myszy. Tworzy guza z małymi komórkami zgodnymi z guzem Wilmsa (ksenografty mogą nie reprezentować całkowicie guzów Wilmsa, patrz E. Kuncze Stroup 2017)

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

Mutational profile Status mutacji WT1: homozygotyczny c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, status mutacji CTNNB1: heterozygotyczny TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normalny

Obsługa

Culture Medium Zestaw MSCGM (od Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 godziny

Komórki Wilmsa1 | 300411

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Seeding density 1×10^4 kom^{órek}/cm²

Fluid renewal 1 do 2 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Szybko

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki Wilmsa1 | 300411**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki Wilmsa1 | 300411

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

Allele HLA

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