

Komórki Wilmsa11 | 300420**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Wilms11 została uzyskana z pierwotnego guza Wilmsa (nefroblastoma) u pacjenta pediatrycznego. W przeciwieństwie do wielu innych linii komórkowych guza Wilmsa, Wilms11 charakteryzuje się obecnością WT1 typu dzikiego, co oznacza, że nie zawiera mutacji w genie WT1, co jest zwykle związane z guzami Wilmsa wykazującymi bardziej agresywne lub zrębowe fenotypy. Jednak guz Wilmsa11 wykazywał znaczne zróżnicowanie zrębu, z dużymi obszarami różnicowania rhabdomyomatozycznego, wskazującymi na elementy mezenchymalne w guzie. Obecność WT1 typu dzikiego, w połączeniu z zróżnicowaniem zrębu guza, stanowi unikalny model do zrozumienia biologii guza Wilmsa w przypadkach, w których mutacje WT1 są nieobecne.

Badania genetyczne Wilms11 wykazały, że ta linia komórkowa jest nosicielem specyficznej dla guza mutacji w CTNNB1, genie kodującym β -kateninę, która odgrywa kluczową rolę w szlaku sygnałowym Wnt. W Wilms11 mutacja ta wpływa na serynę 45, kluczowe miejsce fosforylacji zaangażowane w degradację β -kateniny. Mutacja CTNNB1 powoduje stabilizację β -kateniny, prowadząc do jej akumulacji i konstytutywnej aktywacji szlaku sygnałowego Wnt, będącego czynnikiem napędzającym proliferację komórek i nowotworzenie. To sprawia, że Wilms11 jest ważnym modelem do badania interakcji między sygnalizacją Wnt a rozwojem guza Wilmsa, szczególnie w przypadkach, w których WT1 pozostaje nienaruszony.

Analizy proteomiczne Wilms11 ujawniły aktywację kilku receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK), w tym PDGFR β i AXL, które są zaangażowane w napędzanie wzrostu i przeżycia komórek nowotworowych. Szlaki sygnałowe, takie jak MAPK i PI3K/AKT, są również aktywowane w komórkach Wilms11, przyczyniając się do ich zachowania nowotworowego. Zdolność komórek Wilms11 do różnicowania mezenchymalnego, w szczególności różnicowania rhabdomyomatozycznego, podkreśla ich potencjał jako modelu do badania mezenchymalnych składników guza Wilmsa. Ogólnie rzecz biorąc, Wilms11 służy jako cenne narzędzie do badania mechanizmów molekularnych, które napędzają nowotwór Wilmsa przy braku mutacji WT1, ale w kontekście aktywacji szlaku Wnt.

Organism Człowiek**Tissue** Nerka**Disease** Guz Wilmsa**Applications** Model hodowli komórkowej in vitro. Badania biochemiczne**Charakterystyka****Age** 22 miesiące**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski

Komórki Wilmsa11 | 300420**Morphology** Wrzecionowaty kształt**Cell type** Komórki Wilmsa**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** Wilms11 (numer katalogowy Cytion 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM**Depositor** B. Royer-Pokora**Dane biomolekularne****Mutational profile** Status mutacji WT1: homozygotyczny WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . Status mutacji CTNNB1: typ dziki**Obsługa****Culture Medium** Zestaw MSCGM (od Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**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.

Komórki Wilmsa11 | 300420**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.

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 zawiesinowych, 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

Komórki Wilmsa11 | 300420

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 cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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,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