

Wilms10M-celler | 300418

Allmän information

Description

Cellinjen Wilms10M etablerades från en metastaserande lungnodul hos en patient med Wilms tumör (nefroblastom). Liksom sin motsvarighet i primärtumören, Wilms10T, kännetecknas Wilms10M-cellinjen av en homozygot deletion av WT1-genen, vilket resulterar i fullständig avsaknad av WT1-protein. WT1 är avgörande för normal njurutveckling och dess deletion är förknippad med ett mer aggressivt tumörbeteende, särskilt i metastaserande miljöer. Wilms10M-celler uppvisar dessutom förlust av heterozygoti (LOH) i kromosomregion 11p15, som inkluderar IGF2-genen, vilket ytterligare bidrar till dessa cellers maligna egenskaper.

Wilms10M-cellerna har en stabil karyotyp utan några större kromosomala omarrangemang förutom den specifika deletionen av WT1-regionen. Denna cellinje, som härrör från metastaserande vävnad, är särskilt värdefull för att studera de molekylära mekanismer som driver metastasering i Wilms tumör. Cellerna uppvisar mesenkymala egenskaper och uttrycker markörer som vimentin, medan de saknar epitelmarkörer som cytokeratin, vilket tyder på att de härstammar från tumörens stromala komponent.

Forskningen kring Wilms10M har fokuserat på de signalvägar som är aktiva i dessa metastatiska celler. Proteomiska analyser har påvisat aktivering av flera receptortyrosinkinaser (RTK), inklusive IGF1R, PDGFR β och AXL, som är involverade i att främja cellöverlevnad, proliferation och metastatisk potential. De nedströms MAPK- och PI3K/AKT-signalvägarna aktiveras också, vilket spelar en nyckelroll för att upprätthålla Wilms10M-cellernas invasiva och metastatiska fenotyp. Med tanke på dess metastatiska ursprung är Wilms10M en viktig modell för att förstå de molekylära händelser som ligger bakom metastasering av Wilms-tumörer och för att utveckla riktade terapeutiska strategier mot metastaserande sjukdomar.

Organism Människan

Tissue Njurar

Disease Wilms tumör

Applications In vitro cellodlingsmodell. Biokemiska studier

Synonyms Wilms10

Egenskaper

Age 2 år

Gender Kvinna

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformad

Wilms10M-celler | 300418

Cell type	Wilms-celler
------------------	--------------

Growth properties	Följsam
--------------------------	---------

Lagstadgade uppgifter

Citation	Wilms10M (Cytion katalognummer 300418)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_A5SL
-----------------------------	-----------

Depositor	B. Royer-Pokora
------------------	-----------------

Biomolekylära data

Mutational profile	WT1-mutationsstatus: homozygot del WT1 inom del11p13. LOH: ingen i 11p13 men UPD i 11p15. CTNNB1-mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45, UPD 3p
---------------------------	---

Hantering

Culture Medium	MSCGM-kit (från Lonza)
-----------------------	------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
---------------------	---

Freeze medium	Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.
----------------------	--

Wilms10M-celler | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Wilms10M-celler | 300418

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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