

Wilms1-celler | 300411**Allmän information****Description**

Wilms1-cellinjen härrör från ett primärt Wilms-tumörprov från en patient med stora bilaterala njurtumörer, vilket tyder på Wilms-tumör, ett pediatrikt nefroblastom. Denna cellinje har en homozygot nonsensmutation i WT1-genen (c.149 C>A, p.S50X), vilket resulterar i ett trunkerat och icke-funktionellt WT1-protein. WT1-genen, som är kritisk för njurarnas utveckling och funktion, är ofta muterad i Wilms tumörer, särskilt i dem med en stromal subtyp som uppvisar ektopisk mesenkymal differentiering. Wilms1-celler utgör därför en unik in vitro-modell för att studera konsekvenserna av WT1-förlust av funktion i tumörbiologi.

Wilms1-cellinjen har en stabil karyotyp utan signifikanta kromosomavvikelser, vilket möjliggör tillförlitlig långtidsodling. Dessa celler uppvisar en mesenkymal fenotyp, som kännetecknas av uttryck av vimentin och frånvaro av epitelmarkörer som cytokeratin, vilket överensstämmer med deras stromala ursprung. Dessutom uppvisar cellinjen en begränsad men anmärkningsvärd mesenkymal differentieringskapacitet, inklusive förmågan att differentieras till muskelliknande celler under lämpliga förhållanden. Detta gör Wilms1 till ett ovärderligt verktyg för att undersöka de molekylära mekanismerna för mesenkymal differentiering och dess deregulering i Wilms tumörpatogenes.

Wilms1 har också använts för att studera aktiveringsstatusen hos viktiga signalvägar som är involverade i tumörutvecklingen. Proteomiska analyser har visat att Wilms1-celler uppvisar fosforylering och aktivering av flera receptortyrosinkinaser, inklusive EGFR och PDGFR β , samt MAPK-signalvägar nedströms. Dessa resultat understryker relevansen av Wilms1-cellinjen för att utforska riktade terapeutiska metoder för Wilms-tumörer genom att dissekera dessa signalvägars roll i cancercellers överlevnad, proliferation och differentiering.

Organism	Människan
Tissue	Njurar
Applications	In vitro cellodlingsmodell. Biokemiska studier
Synonyms	Wilms1-2l

Egenskaper

Age	2 år
Gender	Kvinna
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Spindelformad
Cell type	Wilms-celler

Wilms1-celler | 300411

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation Wilms1 (Cytion katalognummer 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Depositor B. Royer-Pokora

Biomolekylära data

Receptors expressed Receptortyrosinkinaser EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, Axl

Tumorigenic Ja, i nakna möss. Bildar tumör med små celler som överensstämmer med Wilms tumör (xenografts kanske inte representerar Wilms tumörer helt, se E. Kunc Stroup 2017)

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

Mutational profile WT1-mutationsstatus: homozygot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: heterozygot TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normal

Hantering

Culture Medium MSCGM-kit (från Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 timmar

Wilms1-celler | 300411

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.

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 1 till 2 gånger per vecka

Post-Thaw Recovery Snabb

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 kryounducerad stress.

Wilms1-celler | 300411

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.

Wilms1-celler | 300411

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,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

HLA-alleler

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