

Wilms3-celler | 300414

Allmän information

Description

Wilms3-cellinjen etablerades från en primär Wilms-tumör hos en pediatrik patient, som kännetecknas av en somatisk WT1-mutation. Till skillnad från många andra cellinjer för Wilms-tumörer har Wilms3 en heterozygot frameshift-mutation i WT1-genen (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), vilket leder till produktion av ett trunkeerat WT1-protein. Denna partiella förlust av WT1-funktionen är förknippad med utvecklingen av tumörer som uppvisar en stromal eller mesenkymal fenotyp. WT1-mutationen i Wilms3 är dock inte homozygot, vilket gör studien mer komplex, eftersom den bibehåller viss WT1-funktion som kan påverka tumörbiologin på ett annat sätt än cellinjer med fullständig WT1-förlust.

Wilms3 bär också på en mutation i CTNNB1-genen, som specifikt påverkar treonin 41 (p.T41A), som spelar en kritisk roll i Wnt-signalvägen. Mutationen stabiliserar β -Catenin, vilket förhindrar dess nedbrytning och leder till en konstitutiv aktivering av Wnt-signalvägen. Den ihållande aktiveringen av Wnt-signalering driver cellproliferation och bidrar till tumörutveckling i Wilms3, vilket gör den till en viktig modell för att studera effekterna av CTNNB1-mutationer i samband med en delvis funktionell WT1-bakgrund.

Fenotypiskt uppvisar Wilms3-celler en mesenkymaliknande morfologi, med uttryck av vimentin och avsaknad av cytokeratin, vilket överensstämmer med de stromala egenskaper som observerats i den ursprungliga tumören. Dessa celler uppvisar begränsad differentieringspotential, med förmåga att genomgå viss mesenkymal differentiering under specifika förhållanden. Proteomiska analyser av Wilms3 har visat att flera receptortyrosinkinaser (RTK) aktiveras, bland annat PDGFR β och AXL, vilket bidrar till cellöverlevnad och cellproliferation. Dessutom aktiveras nedströms signalvägar som MAPK och PI3K/AKT, vilket förstärker de maligna egenskaperna hos Wilms3-cellerna.

En unik aspekt av Wilms3 är dess partiella WT1-funktionalitet, vilket ger ett distinkt perspektiv på hur WT1-mutationer bidrar till Wilms tumörbiologi när mutationen inte är fullständig. Samspelet mellan WT1 och Wnt-signalering i Wilms3 erbjuder en värdefull möjlighet att studera de nyanserade roller som dessa signalvägar spelar i tumörutvecklingen. Sammantaget fungerar Wilms3 som en viktig modell för att undersöka de molekylära mekanismer som ligger till grund för Wilms tumör i närvaro av partiell WT1-förlust och konstitutiv Wnt-vägaktivering.

Organism Människan

Tissue Njurar

Disease Wilms tumör

Applications In vitro cellodlingsmodell. Biokemiska studier

Egenskaper

Age 11-12 månader

Gender Man

Wilms3-celler | 300414**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Spindelformad**Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** Wilms3 (Cytion katalognummer 300414)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SF**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekylära data****Mutational profile** WT1-mutationsstatus: homozygot c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: vildtyp**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.

Wilms3-celler | 300414

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium 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.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad 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.

Wilms3-celler | 300414**Shipping
Conditions**

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

**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: 12,13
D16S539: 9,11
D5S818: 9,9
D7S820: 10,11
TH01: 6,6
TPOX: 8,8
vWA: 16,17
D3S1358: 15,16
D21S11: 29,31
D18S51: 13,17
Penta E: 7,10
Penta D: 9,13
D8S1179: 10,11
FGA: 22,24

HLA-alleler

A*: '03:01:01
B*: '35:01:01, '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:03:01, '11:04:01
DQA1*: '03:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '03:02:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:03:02, '01:06:01