

Wilms6-celler | 300415

Allmän information

Description

Wilms6-cellinjen etablerades från en primär Wilms-tumör hos en pediatrik patient med en germline WT1-mutation. Denna cellinje definieras av en homozygot nonsensmutation i WT1-genen (c.1168 C>T, p.R390X), vilket resulterar i ett trunkerat och icke-funktionellt WT1-protein. WT1 är en kritisk regulator för njurarnas utveckling och förlust av WT1 är starkt förknippad med Wilms tumör, särskilt i fall som uppvisar mesenkymal differentiering. Wilms6-cellinjen är en viktig modell för att studera de tumörframkallande effekterna av fullständig WT1-förlust, särskilt i samband med tumörer som uppvisar både epiteliala och mesenkymala egenskaper.

Wilms6-cellerna bär också på en mutation i CTNNB1-genen, som specifikt påverkar serin 45 (p.S45F), en viktig plats för fosforylering som reglerar nedbrytningen av β -Catenin. Denna mutation leder till stabilisering och kärnackumulering av β -Catenin, vilket resulterar i en konstitutiv aktivering av Wnt-signalvägen. Den avvikande aktiveringen av Wnt-signaleringsvägen är en känd drivkraft för cellproliferation och tumörutveckling i Wilms-tumörer, vilket gör Wilms6 till ett värdefullt verktyg för att undersöka vilken roll dysreglering av Wnt-signalvägen har i tumörer med WT1-mutationer.

Fenotypiskt uppvisar Wilms6-celler en mesenkymal morfologi, med starkt uttryck av vimentin och avsaknad av epitelmarkörer som cytokeratin, vilket återspeglar den ursprungliga tumörens stromala natur. Dessa celler har visat sig ha en begränsad men anmärkningsvärd differentieringspotential, inklusive förmågan att differentieras till muskelliknande celler under specifika förhållanden, vilket speglar den mesenkymala differentiering som observerats i vissa Wilms-tumörer. Proteomiska studier av Wilms6 har identifierat aktivering av flera receptortyrosinkinaser (RTK), inklusive PDGFR β och AXL, som är involverade i att främja cellöverlevnad, proliferation och migration. Nedströmsaktiveringen av signalvägar som MAPK och PI3K/AKT understryker ytterligare cellinjens aggressiva karaktär.

Sammantaget fungerar Wilms6-cellinjen som en viktig modell för att utforska de molekylära mekanismer som ligger bakom utvecklingen av Wilms-tumörer, särskilt i fall av fullständig WT1-förlust i kombination med aktivering av Wnt-signaleringsvägen. Dess genetiska och fenotypiska egenskaper gör den till en utmärkt plattform för att studera samspelet mellan WT1-brist och avvikande signalvägar, vilket ger insikter om potentiella terapeutiska mål för denna aggressiva tumörtyp.

Organism Människan

Tissue Njurar

Disease Wilms tumör

Applications In vitro cellodlingsmodell. Biokemiska studier

Egenskaper

Age 15 månader

Gender Man

Wilms6-celler | 300415**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Spindelformad**Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** Wilms6 (Cytion katalognummer 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekylära data****Mutational profile** WT1-mutationsstatus: homozygot c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45**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.

Wilms6-celler | 300415

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 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 flödeskuv 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.

Wilms6-celler | 300415

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 mykoplasma-diagnostik.

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: 8,11
D16S539: 9,11
D5S818: 8,9
D7S820: 8,11
TH01: 9,9
TPOX: 11,11
vWA: 16,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,30
D18S51: 12,16
Penta E: 8,13
Penta D: 11,11
D8S1179: 11,13
FGA: 22,23

HLA-alleler

A*: '02:05:01, '29:01:01
B*: '07:05:01, '13:02:01
C*: '06:02:01, '15:05:02
DRB1*: '07:01:01, '10:01:01
DQA1*: '01:05:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:01:01
DPB1*: '04:02:01, '17:01:01
E: '01:01:01