

Wilms11-celler | 300420

Allmän information

Description

Cellinjen Wilms11 härrör från en primär Wilms-tumör (nefroblastom) hos en pediatrik patient. Till skillnad från många andra cellinjer för Wilms-tumörer kännetecknas Wilms11 av förekomsten av WT1 av vildtyp, vilket innebär att den inte har mutationer i WT1-genen, som vanligtvis förknippas med Wilms-tumörer som uppvisar mer aggressiva eller stromala fenotyper. Wilms11-tumören uppvisade dock en betydande stromal differentiering, med stora områden av rhabdomyomatös differentiering, vilket tyder på mesenkymala element i tumören. Förekomsten av WT1 av vildtyp, i kombination med tumörens stromala differentiering, utgör en unik modell för att förstå Wilms-tumörens biologi i fall där WT1-mutationer saknas.

Genetiska studier av Wilms11 har visat att denna cellinje bär på en tumörspecifik mutation i CTNNB1, genen som kodar för β -Catenin, som spelar en avgörande roll i Wnt-signalvägen. I Wilms11 påverkar denna mutation serin 45, ett viktigt fosforyleringsställe som är involverat i nedbrytningen av β -Catenin. CTNNB1-mutationen resulterar i stabilisering av β -Catenin, vilket leder till ackumulering och konstitutiv aktivering av Wnt-signalvägen, en drivkraft för cellproliferation och tumörutveckling. Detta gör Wilms11 till en viktig modell för att studera samspelet mellan Wnt-signaler och utveckling av Wilms-tumörer, särskilt i de fall där WT1 förblir intakt.

Proteomiska analyser av Wilms11 har visat på aktivering av flera receptortyrosinkinaser (RTK), inklusive PDGFR β och AXL, som är involverade i tumörcellernas tillväxt och överlevnad. Nedströms signalvägar, såsom MAPK- och PI3K/AKT-vägarna, aktiveras också i Wilms11-cellerna, vilket bidrar till deras tumörframkallande beteende. Wilms11-cellernas förmåga att genomgå mesenkymal differentiering, särskilt rhabdomyomatös differentiering, belyser deras potential som modell för att studera de mesenkymala komponenterna i Wilms tumör. Sammantaget fungerar Wilms11 som ett värdefullt verktyg för att undersöka de molekylära mekanismer som driver Wilms tumörutveckling i frånvaro av WT1-mutationer men i samband med aktivering av Wnt-vägen.

Organism Människan

Tissue Njurar

Disease Wilms tumör

Applications In vitro cellodlingsmodell. Biokemiska studier

Egenskaper

Age 22 månader

Gender Man

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformad

Wilms11-celler | 300420**Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** Wilms11 (Cytion katalognummer 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekylära data****Mutational profile** WT1-mutationsstatus: homozygot WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . 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.**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.

Wilms11-celler | 300420

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-kulturkolv; 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.

Wilms11-celler | 300420

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: 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