

Celice Wilms1 | 300411**Splošne informacije****Description**

Celična linija Wilms1 je bila pridobljena iz vzorca primarnega Wilmsovega tumorja, pridobljenega od bolnika z velikimi obojestranskimi ledvičnimi tumorji, ki kažejo na Wilmsov tumor, pediatrični nefroblastom. Ta celična linija ima homozigotno nesmiselno mutacijo v genu WT1 (c.149 C>A, p.S50X), ki povzroča skrajšano in nefunkcionalno beljakovino WT1. Gen WT1, ki je ključen za razvoj in delovanje ledvic, je pogosto mutiran pri Wilmsovem tumorju, zlasti pri tumorjih s stromalnim podtipom, ki ima ektopično mezenhimsko diferenciacijo. Celice Wilms1 zato predstavljajo edinstven in vitro model za preučevanje posledic izgube funkcije WT1 v biologiji tumorjev.

Celična linija Wilms1 ohranja stabilen kariotip brez pomembnih kromosomskih nepravilnosti, kar omogoča zanesljivo dolgoročno gojenje. Te celice imajo mezenhimski fenotip, za katerega je značilno izražanje vimentina in odsotnost epiteljskih označevalcev, kot je citokeratin, kar je skladno z njihovim stromalnim izvorom. Poleg tega celična linija izkazuje omejeno, vendar opazno sposobnost mezenhimske diferenciacije, vključno s sposobnostjo diferenciacije v mišične celice pod ustreznimi pogoji. Zaradi tega je Wilms1 neprecenljivo orodje za raziskovanje molekularnih mehanizmov mezenhimske diferenciacije in njene deregulacije v patogenezi Wilmsovega tumorja.

Wilms1 je bil uporabljen tudi za preučevanje stanja aktivacije ključnih signalnih poti, ki sodelujejo pri napredovanju tumorja. Proteomske analize so pokazale, da celice Wilms1 kažejo fosforilacijo in aktivacijo več receptorskih tirozinskih kinaz, vključno z EGFR in PDGFR β , ter signalnih poti MAPK, ki so v nadaljevanju verige. Te ugotovitve poudarjajo pomen celične linije Wilms1 pri raziskovanju ciljno usmerjenih terapevtskih pristopov za tumor Wilms, in sicer z ugotavljanjem vloge teh poti pri preživetju, proliferaciji in diferenciaciji rakavih celic.

Organism Človek**Tissue** Ledvice**Applications** In vitro model celične kulture. Biokemične študije**Synonyms** Wilms1-2l**Značilnosti****Age** 2 leti**Gender** Ženske**Ethnicity** Kavkaški**Morphology** Vretenasta oblika**Cell type** Wilmsove celice

Celice Wilms1 | 300411

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation Wilms1 (kataloška številka Cytion 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Biomolekularni podatki

Receptors expressed Receptorske tirozinske kinaze EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Da, na golih miših. Oblikuje tumor z majhnimi celicami, ki ustreza Wilmsovemu tumorju (ksenografti morda ne predstavljajo v celoti Wilmsovih tumorjev, glej E. Kuncze Stroup 2017)

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

Mutational profile Status mutacije WT1: homozigotna c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, status mutacije CTNNB1: heterozigotna TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normalno

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium Komplet MSCGM (Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 ur

Celice Wilms1 | 300411

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal 1 do 2-krat na teden

Post-Thaw Recovery Hitro

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice Wilms1 | 300411

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice Wilms1 | 300411

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli HLA

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