

Celice Wilms11 | 300420

Splošne informacije

Description

Celična linija Wilms11 je bila pridobljena iz primarnega Wilmsovega tumorja (nefroblastoma) pri pediatričnem bolniku. Za razliko od številnih drugih celičnih linij tumorjev Wilms je za Wilms11 značilna prisotnost divjega tipa WT1, kar pomeni, da ne vsebuje mutacij v genu WT1, ki so običajno povezane s tumorji Wilms z agresivnejšim ali stromalnim fenotipom. Vendar je tumor Wilms11 izkazoval znatno stromalno diferenciacijo z velikimi območji rabdomiomatozne diferenciacije, kar kaže na mezenhimske elemente v tumorju. Prisotnost divjega tipa WT1 v kombinaciji s stromalno diferenciacijo tumorja zagotavlja edinstven model za razumevanje biologije tumorjev Wilms v primerih, ko mutacije WT1 niso prisotne.

Genetske študije Wilms11 so pokazale, da ima ta celična linija tumorsko specifično mutacijo v genu CTNNB1, ki kodira β -katenin, ki ima ključno vlogo v signalni poti Wnt. Pri Wilms11 ta mutacija vpliva na serin 45, ključno mesto fosforilacije, ki sodeluje pri razgradnji β -Catenina. Mutacija CTNNB1 povzroči stabilizacijo β -katenina, kar vodi do njegovega kopičenja in konstitutivne aktivacije signalne poti Wnt, ki je gonilna sila celične proliferacije in tumorogeneze. Zaradi tega je Wilms11 pomemben model za preučevanje medsebojnega vpliva med signalizacijo Wnt in razvojem Wilmsovega tumorja, zlasti v primerih, ko WT1 ostane nedotaknjen.

Proteomske analize Wilms11 so razkrile aktivacijo več receptorskih tirozinskih kinaz (RTK), vključno s PDGFR β in AXL, ki sodelujejo pri spodbujanju rasti in preživetja tumorskih celic. V celicah Wilms11 se aktivirajo tudi signalne poti, kot sta MAPK in PI3K/AKT, kar prispeva k njihovemu tumorogenemu obnašanju. Sposobnost celic Wilms11 za mezenhimsko diferenciacijo, zlasti rabdomiomatozno diferenciacijo, poudarja njihov potencial kot modela za preučevanje mezenhimskih komponent tumorja Wilms. Na splošno je Wilms11 dragoceno orodje za raziskovanje molekularnih mehanizmov, ki spodbujajo nastanek Wilmsovega tumorja v odsotnosti mutacij WT1, vendar v okviru aktivacije poti Wnt.

Organism

Človek

Tissue

Ledvice

Disease

Wilmsov tumor

Applications

In vitro model celične kulture. Biokemične študije

Značilnosti

Age

22 mesecev

Gender

Moški

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Vretenasta oblika

Cell type

Wilmsove celice

Celice Wilms11 | 300420

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation Wilms11 (katalogška številka Cytion 300420)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SM

Biomolekularni podatki

Mutational profile Mutacijski status WT1: homozigotni WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1 status mutacije: divji tip

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium Komplet MSCGM (Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

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. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

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

Celice Wilms11 | 300420

**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 krioviala 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 Wilms11 | 300420

**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.