

Клітини Wilms1 | 300411

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія Wilms1 була отримана з первинного зразка пухлини Вільмса, отриманого від пацієнта з великими двосторонніми пухлинами нирок, що вказують на пухлину Вільмса, дитячу нефробластому. Ця клітинна лінія містить гомозиготну нонсенс-мутацію в гені WT1 (с.149 C>A, р.S50X), що призводить до утворення усіченого і нефункціонального білка WT1. Ген WT1, критичний для розвитку і функції нирок, часто мутує в пухлині Вільмса, особливо в тих, що мають стромальний підтип, який демонструє ектопічну мезенхімальну диференціацію. Таким чином, клітини Wilms1 є унікальною моделлю in vitro для вивчення наслідків втрати функції WT1 в біології пухлин.

Клітини лінії Wilms1 зберігають стабільний каріотип без значних хромосомних аномалій, що дозволяє надійно культивувати їх протягом тривалого часу. Ці клітини демонструють мезенхімальний фенотип, що характеризується експресією віментину і відсутністю епітеліальних маркерів, таких як цитокератин, що відповідає їх стромальному походженню. Крім того, клітинна лінія демонструє обмежену, але помітну здатність до мезенхімальної диференціації, включаючи здатність диференціюватися в м'язові клітини за відповідних умов. Це робить Wilms1 безцінним інструментом для дослідження молекулярних механізмів мезенхімальної диференціації та її дерегуляції в патогенезі пухлини Вільмса.

Wilms1 також використовується для вивчення стану активації ключових сигнальних шляхів, що беруть участь у пухлинній прогресії. Протеомний аналіз показав, що клітини Wilms1 демонструють фосфорилування та активацію декількох рецепторних тирозинкіназ, включаючи EGFR та PDGFRβ, а також наступні сигнальні шляхи MAPK. Ці результати підкреслюють актуальність клітинної лінії Wilms1 для вивчення таргетних терапевтичних підходів до лікування пухлини Вільмса шляхом вивчення ролі цих шляхів у виживанні, проліферації та диференціюванні ракових клітин.

Organism Людина

Tissue Нирка

Applications Модель культури клітин in vitro. Біохімічні дослідження

Synonyms Вільмс1-2л

Характеристики

Age 2 роки

Gender Жінка

Ethnicity Кавказець

Morphology Веретеноподібна форма

Cell type Клітини Вільмса

Клітини Wilms1 | 300411

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation Wilms1 (номер за каталогом Cytion 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Біомолекулярні дані

Receptors expressed Рецепторні тирозинкінази EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Так, у голих мишей. Утворює пухлину з дрібними клітинами, що відповідає пухлині Вільмса (ксенотрансплантати можуть не повністю представляти пухлини Вільмса, див. E. Kuncе Stroup 2017)

Viruses ВІЛ-1: негативний, ВГВ: негативний, ВГС: негативний

Mutational profile Статус мутації WT1: гомозиготний с. 149 C>A, р.S50х, LOH: 11p11-11pter, статус мутації CTNNB1: гетерозиготний TCT>TTT, р.S45F

Karyotype 46, нормальний

Обробка

Culture Medium Комплект MSCGM (від Lonza)

Dissociation Reagent Аккутаза

Doubling time 24 години

Клітини Wilms1 | 300411

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини акутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Seeding density 1×10^4 клітин/см²

Fluid renewal 1-2 рази на тиждень

Post-Thaw Recovery Швидко

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини Wilms1 | 300411

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини Wilms1 | 300411

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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