

Клітини Wilms3 | 300414

Загальна інформація

Description

Клітинну лінію Wilms3 було отримано з первинної пухлини Вільмса у педіатричного пацієнта, що характеризується соматичною мутацією WT1. На відміну від багатьох інших клітинних ліній пухлини Вільмса, лінія Wilms3 має гетерозиготну мутацію зсуву рамки в гені WT1 (с.1293-1294insA, р.V432SfsX87), що призводить до вироблення усіченого білка WT1. Ця часткова втрата функції WT1 пов'язана з розвитком пухлин, які мають стромальний або мезенхімальний фенотип. Однак мутація WT1 у Wilms3 не є гомозиготною, що додає складнощів у її вивченні, оскільки вона зберігає певну функцію WT1, яка може впливати на біологію пухлини інакше, ніж клітинні лінії з повною втратою WT1.

Wilms3 також несе мутацію в гені CTNNB1, що впливає на тронін 41 (р.T41A), який відіграє важливу роль у сигнальному шляху Wnt. Ця мутація стабілізує β-катенін, запобігаючи його деградації та призводить до конститутивної активації шляху Wnt. Стійка активація сигнального шляху Wnt стимулює проліферацію клітин і сприяє пухлиноутворенню в лінії Wilms3, що робить її ключовою моделлю для вивчення впливу мутацій CTNNB1 в контексті частково функціонального фону WT1.

Фенотипічно клітини Wilms3 мають мезенхімальну морфологію, експресують віментин і не містять цитокератину, що відповідає стромальним характеристикам, які спостерігаються у вихідній пухлині. Ці клітини мають обмежений потенціал диференціювання, але здатні до мезенхімального диференціювання за певних умов. Протеомний аналіз Wilms3 виявив активацію декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), включаючи PDGFRβ і AXL, які підтримують виживання і проліферацію клітин. Крім того, активуються наступні сигнальні шляхи, такі як MAPK і PI3K/AKT, що посилює злаякісні властивості клітин Wilms3.

Одним з унікальних аспектів Wilms3 є часткова функціональність WT1, що дає чітке уявлення про те, як мутації WT1 впливають на біологію пухлини Вільмса, коли мутація не є повною. Взаємодія між сигналами WT1 і Wnt у Wilms3 дає цінну можливість вивчити нюанси ролі цих шляхів у розвитку пухлин. В цілому, Wilms3 слугує важливою моделлю для дослідження молекулярних механізмів, що лежать в основі пухлини Вільмса за наявності часткової втрати WT1 та конститутивної активації шляху Wnt.

Organism Людина

Tissue Нирка

Disease Пухлина Вільмса

Applications Модель культури клітин in vitro. Біохімічні дослідження

Характеристики

Age 11-12 місяців

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Клітини Wilms3 | 300414

Morphology Веретеноподібна форма

Cell type Клітини Вільмса

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation Wilms3 (номер за каталогом Cytion 300414)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SF

Біомолекулярні дані

Mutational profile Статус мутації WT1: гомозиготний c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, статус мутації CTNNB1: дикий тип

Обробка

Culture Medium Комплект MSCGM (від Lonza)

Dissociation Reagent Аккутаза

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 аккутазою, 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 300хg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Freeze medium Як середовище криоконсервування 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 Wilms3 | 300414

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 Wilms3 | 300414

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, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

A*: '03:01:01
B*: '35:01:01, '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:03:01, '11:04:01
DQA1*: '03:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '03:02:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:03:02, '01:06:01