

Клітини Wilms11 | 300420

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія Wilms11 була отримана з первинної пухлини Вільмса (нефробластоми) у педіатричного пацієнта. На відміну від багатьох інших клітинних ліній пухлини Вільмса, Wilms11 характеризується наявністю дикого типу WT1, тобто не містить мутацій в гені WT1, що зазвичай асоціюється з більш агресивним або стромальним фенотипом пухлини Вільмса. Однак пухлина Вільмса11 демонструвала значну стромальну диференціацію з великими ділянками рабдоміоматозного диференціювання, що свідчить про наявність мезенхімальних елементів у пухлині. Наявність дикого типу WT1 у поєднанні зі стромальною диференціацією пухлини забезпечує унікальну модель для розуміння біології пухлини Вільмса у випадках, коли мутації WT1 відсутні.

Генетичні дослідження Wilms11 показали, що ця клітинна лінія несе пухлиноспецифічну мутацію в CTNNB1, гені, що кодує β-катенін, який відіграє вирішальну роль у сигнальному шляху Wnt. У Wilms11 ця мутація впливає на серин 45, ключовий сайт фосфорилування, що бере участь у деградації β-катеніну. Мутація CTNNB1 призводить до стабілізації β-катеніну, що призводить до його накопичення та конститутивної активації сигнального шляху Wnt, драйвера клітинної проліферації та пухлиноутворення. Це робить Wilms11 важливою моделлю для вивчення взаємодії між сигнальним шляхом Wnt і розвитком пухлини Вільмса, особливо у випадках, коли WT1 залишається інтактним.

Протеомний аналіз Wilms11 виявив активацію декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), включаючи PDGFRβ та AXL, які беруть участь у стимулюванні росту та виживання пухлинних клітин. Наступні сигнальні шляхи, такі як MAPK і PI3K/AKT, також активуються в клітинах Wilms11, сприяючи їх пухлинній поведінці. Здатність клітин Wilms11 до мезенхімального диференціювання, зокрема рабдоміоматозного, підкреслює їх потенціал як моделі для вивчення мезенхімальних компонентів пухлини Вільмса. В цілому, Wilms11 слугує цінним інструментом для дослідження молекулярних механізмів, які керують пухлиною Вільмса за відсутності мутацій WT1, але в контексті активації шляху Wnt.

Organism Людина

Tissue Нирка

Disease Пухлина Вільмса

Applications Модель культури клітин in vitro. Біохімічні дослідження

Характеристики

Age 22 місяці

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Morphology Веретеноподібна форма

Клітини Wilms11 | 300420

Cell type Клітини Вільмса

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation Wilms11 (номер за каталогом Cytion 300420)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SM

Біомолекулярні дані

Mutational profile Статус мутації WT1: гомозиготний WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . 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 300xg 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 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 Wilms11 | 300420

**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 Wilms11 | 300420

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.