

Клітини Wilms8 | 300416

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія Wilms8 була отримана з первинної пухлини Вільмса у педіатричного пацієнта з мутацією зародкової лінії WT1. Ця клітинна лінія характеризується гомозиготною нонсенс-мутацією в гені WT1 (с.1168 C>T, р.R390X), що призводить до повної втрати функції WT1. WT1 має вирішальне значення для нормального розвитку нирок, і його інактивація є поширеною ознакою деяких агресивних підтипів пухлини Вільмса, особливо тих, які демонструють мезенхімальну диференціацію. Таким чином, пухлина Вільмса8 є цінною моделлю для вивчення впливу втрати WT1 на пухлиногенез, особливо в контексті пухлин Вільмса, які виникають з вираженим стромальним компонентом.

Крім мутації WT1, клітини Вільмса8 містять мутацію в гені CTNNB1 (р.S45A), який кодує β-катенін, ключовий регулятор сигнального шляху Wnt. Мутація у серині 45 порушує нормальний процес фосфорилування, що призводить до деградації β-катеніну, спричиняючи його стабілізацію та накопичення в ядрі. Це призводить до конститутивної активації сигналізації Wnt, яка стимулює проліферацію клітин і сприяє онкогенним властивостям клітинної лінії Wilms8. Взаємодія між втратою WT1 та аберантною сигналізацією Wnt у клітинах лінії Wilms8 робить її важливою моделлю для розуміння молекулярних механізмів, що лежать в основі цих шляхів у біології пухлини Вільмса.

Клітини Вільмса8 мають мезенхімальний фенотип, що характеризується експресією віментину і відсутністю епітеліальних маркерів, таких як цитокератин. Це узгоджується зі стромальною диференціацією, що спостерігається в оригінальній пухлині. Клітини демонструють обмежену здатність до подальшої мезенхімальної диференціації, наприклад, до формування м'язових клітин за певних умов. Протеомний аналіз Wilms8 виявив активацію декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), включаючи PDGFRβ і AXL, які беруть участь у ключових процесах, таких як виживання, міграція і проліферація клітин. Активація наступних сигнальних шляхів, зокрема MAPK і PI3K/AKT, ще більше посилює агресивні характеристики клітин лінії Wilms8.

В цілому, клітинна лінія Wilms8 слугує важливим інструментом для дослідження молекулярних основ пухлини Вільмса, зумовленої втратою WT1 та аберантною сигналізацією Wnt. Її генетичні та фенотипічні особливості роблять її надійною платформою для вивчення взаємодії між цими критичними шляхами та для виявлення потенційних терапевтичних мішеней у пухлинах Вільмса зі стромальним компонентом.

Organism Людина

Tissue Нирка

Disease Пухлина Вільмса

Applications Модель культури клітин in vitro. Біохімічні дослідження

Характеристики

Age 8 місяців

Gender Чоловік

Клітини Wilms8 | 300416

Ethnicity Кавказець**Morphology** Веретеноподібна форма**Cell type** Клітини Вільмса**Growth properties** Адепт

Нормативні дані

Citation Wilms8 (номер за каталогом Cytion 300416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SJ

Біомолекулярні дані

Mutational profile Статус мутації WT1: гомозиготний с.1168C>T, р.390х, LOH: , Статус мутації CTNNB1: гетерозиготний TCT>GCT, р.S45A

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.

Клітини Wilms8 | 300416

Freeze medium

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

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. Дотримуйтесь 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

Клітини Wilms8 | 300416

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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*: '02:01:01, '03:01:01

B*: '15:01:01, '37:01:01

C*: '04:01:01, '06:02:01

DRB1*: '08:01:01G, '11:01:01

DQA1*: '04:01:01, '05:05:01

DQB1*: '03:01:01, '04:02:01

DPB1*: '03:01:01, '06:01:01

E: '01:03:02