Уилмс1

300411

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

Клетъчната линия Wilms1 е получена от първична проба от тумор на Уилмс, получена от пациент с големи двустранни тумори на бъбреците, което е показателно за тумор на Уилмс, педиатричен нефробластом. Тази клетъчна линия е носител на хомозиготна nonsense мутация в гена WT1 (c.149 C>A, p.S50X), която води до съкратен и нефункционален протеин WT1. Генът WT1, който е от решаващо значение за развитието и функцията на бъбреците, често мутира при туморите на Вилмс, особено при тези със стромален подтип, който проявява ектопична мезенхимна диференциация. Следователно клетките Wilms1 представляват уникален in vitro модел за изучаване на последиците от загубата на функцията на WT1 в туморната биология.
Клетъчната линия Wilms1 поддържа стабилен кариотип без значителни хромозомни аномалии, което позволява надеждно дългосрочно култивиране. Тези клетки проявяват мезенхимен фенотип, характеризиращ се с експресия на виментин и липса на епителни маркери като цитокератин, което съответства на техния стромален произход. Освен това клетъчната линия демонстрира ограничена, но забележима способност за мезенхимна диференциация, включително способност да се диференцира в мускулоподобни клетки при подходящи условия. Това прави Wilms1 безценен инструмент за изследване на молекулярните механизми на мезенхимната диференциация и нейната дерегулация в патогенезата на тумора на Wilms.
Wilms1 се използва и за изследване на състоянието на активиране на ключови сигнални пътища, участващи в туморната прогресия. Протеомичните анализи показват, че клетките Wilms1 показват фосфорилиране и активиране на няколко рецепторни тирозинови кинази, включително EGFR и PDGFRβ, както и на низходящите MAPK сигнални пътища. Тези констатации подчертават значението на клетъчната линия Wilms1 за проучване на целеви терапевтични подходи за тумора на Wilms чрез разчленяване на ролята на тези пътища в оцеляването, пролиферацията и диференциацията на раковите клетки.

Тъкан	Бъбреци

Приложения

Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания

Синоними

- Wilms1-2l

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Секс	Женски
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Ниво на биологична безопасност	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфология	С форма на вретено
Тип клетка	Клетки на Вилмс
Туморогенен	Да, при голи мишки. Образува тумор с малки клетки, съответстващ на тумор на Вилмс (ксенографтите може да не представляват напълно тумори на Вилмс, вж. E. Kunce Stroup 2017)

Кариотип

46, нормално

Време за удвояване	24 часа

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

Wilms1 (каталожен номер 300411 на Cytion)

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	CVCL_A5SC

ПРОЯВА И ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ

Експресирани рецептори

Рецепторни тирозинкинази EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Мутационен профил

Статус на мутация на WT1: хомозиготна c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, статус на мутация на CTNNB1: хетерозиготна TCT>TTT, p.S45F

Вируси

HIV-1: отрицателен, HBV: отрицателен, HCV: отрицателен

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

Комплект MSCGM (от Lonza)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.
Реагент за дисоциация	Accutase

Пресаждане

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Плътност на засяването	1 x 10^4 клетки/cm^2
Обновяване на течността	1 до 2 пъти седмично
Възстановяване след размразяване	Бърз

Размразяване и култивиране

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Възраст на донора	2 години
Етническа принадлежност	Кавказки

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Необходимо е споразумение за прехвърляне на материали	Yes