Product sheet

Клетки Wilms2 | 300413

Обща информация

Description	Клетъчната линия Wilms2 е получена от първичен тумор на Wilms при педиатричен пациент със зародишна мутация на WT1. Тази клетъчна линия се характеризира с хомозиготна nonsense мутация в гена WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), която води до производството на съкратен, нефункционален протеин WT1. Загубата на функционалния WT1, ген от съществено значение за развитието на бъбреците, е отличителен белег на някои подтипове тумор на Wilms, особено на тези, свързани с мезенхимна или стромална диференциация. Клетъчната линия Wilms2 е важен модел за изучаване на туморогенните процеси, обусловени от загубата на WT1, особено в контекста на тумори на Wilms, които запазват други критични генетични характеристики. Клетките Wilms2 носят и мутации в гена CTNNB1, който кодира β-Катенин, ключов компонент на сигналния път на Wnt. Тези мутации, засягащи по-специално серин 45, водят до стабилизиране и натрупване на β-Катенин, което води до конститутивно активиране на пътя на Wnt. Това активиране е известен двигател на клетъчната пролиферация и туморогенезата при тумора на Wilms, което прави Wilms2 ценен модел за разбиране как аберантната Wnt сигнализация допринася за развитието и прогресията на туморите с мутации на WT1. По отношение на фенотипа клетките на Wilms2 показват мезенхимно-подобна морфология, експресират виментин и нямат епителни маркери като цитокератин. Това съответства на стромалните характеристики на тумора и подчертава ролята на WT1 в регулирането на мезенхимно-епителните преходи по време на развитието на бъбреците. Протеомичните анализи на Wilms2 установиха активирането на няколко рецепторни тирозинкинази (RTK), включително PDGFRβ и AXL, за които е известно, че подпомагат оцеляването и пролиферацията на туморните клетки. Освен това се активират и низходящи пътища като MAPK и PI3K/AKT, което допълнително допринася за злокачествените свойства на клетките Wilms2. Като цяло клетъчната линия Wilms2 служи като основен инструмент за изследване на молекулярните механизми на тумора на Wilms, причинен от загубата на WT1 и аберантната Wnt сигнализация. Нейните генетични и фенотипни характеристики осигуряват стабилна платформа за изследване на потенциални терапевтични цели и за разбиране на ролята на ключови сигнални пътища в патологията на туморите на Wilms с мезенхимна компонента.
Organism	Човек
Tissue	Бъбреци
Disease	Тумор на Вилмс
Applications	Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания

Характеристики

Age	1 година
Gender	Мъжки

Клетки Wilms2 | 300413

Ethnicity	Кавказки
Morphology	С форма на вретено
Cell type	Клетки на Вилмс
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	Wilms2 (каталожен номер 300413 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SE

Биомолекулярни данни

Mutational profile	Статус на мутация на WT1: хомозиготна c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, статус на мутация на CTNNB1: хетерозиготна del TCT>TAT, p.S45Y

Работа с

Culture Medium	Комплект MSCGM (от Lonza)
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	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.

Клетки Wilms2 | 300413

Freeze medium	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.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки Wilms2 | 300413

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка 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.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка 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.
Storage Conditions	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.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	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.
HLA алели	**A***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '15:01:01, '57:01:01 **C***: '03:03:01, '07:01:01 **DRB1***: '04:01:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '03:01:01 **DQB1***: '03:02:01, '03:03:02 **DPB1***: '04:01:01G, '04:02:01G **E**: '01:01:01, '01:03:02