

Buňky Wilms2 | 300413

Obecné informace

Description

Buněčná linie Wilms2 byla odvozena z primárního Wilmsova nádoru u dětského pacienta se zárodečnou mutací WT1. Tato buněčná linie je charakterizována homozygotní nonsense mutací v genu WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), která vede k produkci zkráceného, nefunkčního proteinu WT1. Ztráta funkčního WT1, genu nezbytného pro vývoj ledvin, je charakteristickým znakem některých podtypů Wilmsova nádoru, zejména těch, které jsou spojeny s mezenchymální nebo stromální diferenciací. Buněčná linie Wilms2 je významným modelem pro studium nádorových procesů způsobených ztrátou WT1, zejména v kontextu Wilmsových nádorů, které si zachovávají další kritické genetické vlastnosti.

Buňky Wilms2 nesou také mutace v genu CTNNB1, který kóduje β -Catenin, klíčovou složku signální dráhy Wnt. Tyto mutace, konkrétně postihující serin 45, vedou ke stabilizaci a akumulaci β -Cateninu, což má za následek konstitutivní aktivaci dráhy Wnt. Tato aktivace je známou hnací silou buněčné proliferace a tumorigeneze u Wilmsova nádoru, což z Wilms2 činí cenný model pro pochopení toho, jak aberantní signalizace Wnt přispívá k rozvoji a progresi nádorů s mutacemi WT1.

Co se týče fenotypu, buňky Wilms2 vykazují morfologii podobnou mezenchymální, exprimují vimentin a postrádají epiteliální markery, jako je cytokeratin. To odpovídá stromálním charakteristikám nádoru a podtrhuje úlohu WT1 v regulaci mezenchymálně-epiteliálních přechodů během vývoje ledvin. Proteomické analýzy Wilms2 identifikovaly aktivaci několika receptorových tyrozinkináz (RTK), včetně PDGFR β a AXL, o nichž je známo, že podporují přežívání a proliferaci nádorových buněk. Kromě toho jsou aktivovány i navazující dráhy, jako jsou MAPK a PI3K/AKT, což dále přispívá k maligním vlastnostem buněk Wilms2.

Celkově buněčná linie Wilms2 slouží jako základní nástroj pro zkoumání molekulárních mechanismů Wilmsova nádoru způsobeného ztrátou WT1 a aberantní signalizací Wnt. Její genetické a fenotypové charakteristiky poskytují robustní platformu pro zkoumání potenciálních terapeutických cílů a pro pochopení úlohy klíčových signálních drah v patologii Wilmsových nádorů s mezenchymální složkou.

Organism Člověk

Tissue Ledviny

Disease Wilmsův nádor

Applications Model buněčné kultury in vitro. Biochemické studie

Charakteristika

Age 1 rok

Gender Muži

Ethnicity Kavkazský

Morphology Vřetenovitý tvar

Buňky Wilms2 | 300413**Cell type** Wilmsovy buňky**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** Wilms2 (katalogové číslo Cytion 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SE**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekulární data****Mutational profile** Stav mutace WT1: homozygotní c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, stav mutace CTNNB1: heterozygotní del TCT>TAT, p.S45Y**Zpracování****Culture Medium** Souprava MSCGM (od společnosti Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro buňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro buňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro buňky T25 a 2,5 ml pro buňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky Wilms2 | 300413**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky Wilms2 | 300413**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,11
D13S317: 9,11
D16S539: 9,9
D5S818: 11,11
D7S820: 10,11
TH01: 6,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,19
D3S1358: 15,15
D21S11: 29,32.2
D18S51: 12,17
Penta E: 11,15
Penta D: 10,12
D8S1179: 14,16
FGA: 21,21

Alely HLA

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