

Wilms2-celler | 300413

Generel information

Description

Wilms2-cellelinjen stammer fra en primær Wilms-tumor hos en pædiatrisk patient med en germline WT1-mutation. Denne cellelinje er karakteriseret ved en homozygot nonsensmutation i WT1-genet (c.1084 C>T, p.R362X), som resulterer i produktion af et afkortet, ikke-funktionelt WT1-protein. Tabet af funktionelt WT1, et gen, der er vigtigt for nyreudvikling, er et kendetegn ved visse undertyper af Wilms-tumor, især dem, der er forbundet med mesenkymal eller stromal differentiering. Wilms2-cellelinjen er en vigtig model til at studere de tumorigeniske processer, der drives af WT1-tab, især i forbindelse med Wilms-tumorer, der bevarer andre kritiske genetiske træk.

Wilms2-celler bærer også mutationer i CTNNB1-genet, som koder for β -Catenin, en nøglekomponent i Wnt-signalvejen. Disse mutationer, som specifikt påvirker serin 45, fører til stabilisering og ophobning af β -Catenin, hvilket resulterer i en konstitutiv aktivering af Wnt-signalvejen. Denne aktivering er en kendt drivkraft for celleproliferation og tumorigenese i Wilms-tumor, hvilket gør Wilms2 til en værdifuld model for at forstå, hvordan afvigende Wnt-signaler bidrager til udvikling og progression af tumorer med WT1-mutationer.

Med hensyn til fænotype udviser Wilms2-celler en mesenkymal lignende morfologi, der udtrykker vimentin og mangler epitelmarkører som cytokeratin. Dette stemmer overens med tumorens stromale karakteristika og understreger WT1's rolle i reguleringen af mesenkym-epitelovergange under nyreudviklingen. Proteomiske analyser af Wilms2 har identificeret aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er), herunder PDGFR β og AXL, som er kendt for at støtte tumorcelleoverlevelse og -spredning. Derudover aktiveres downstream-veje som MAPK og PI3K/AKT, hvilket yderligere bidrager til Wilms2-cellernes ondartede egenskaber.

Samlet set fungerer Wilms2-cellelinjen som et vigtigt værktøj til at udforske de molekylære mekanismer i Wilms-tumor, der er drevet af WT1-tab og afvigende Wnt-signaler. Dens genetiske og fænotypiske egenskaber giver en robust platform til at undersøge potentielle terapeutiske mål og til at forstå de vigtigste signalvejes rolle i patologien i Wilms-tumorer med en mesenkym-komponent.

Organism Menneske**Tissue** Nyre**Disease** Wilms-tumor**Applications** In vitro-cellekulturmodel. Biokemiske undersøgelser

Karakteristika

Age 1 år**Gender** Mand**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Spindelformet

Wilms2-celler | 300413

Cell type	Wilms-celler
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	Wilms2 (Cytion katalognummer 300413)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SE

Biomolekylære data

Mutational profile	WT1-mutationsstatus: homozygot c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: heterozygot del TCT>TAT, p.S45Y
---------------------------	---

Håndtering

Culture Medium	MSCGM-kit (fra Lonza)
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
---------------------	---

Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.
----------------------	--

Wilms2-celler | 300413**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Wilms2-celler | 300413

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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