

## Κύτταρα Wilms1 | 300411

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά Wilms1 προήλθε από πρωτογενές δείγμα όγκου Wilms που ελήφθη από ασθενή με μεγάλους αμφοτερόπλευρους νεφρικούς όγκους, ενδεικτικούς του όγκου Wilms, ενός παιδιατρικού νεφροβλαστώματος. Αυτή η κυτταρική σειρά φέρει μια ομοζυγωτική μετάλλαξη nonsense στο γονίδιο WT1 (c.149 C>A, p.S50X), η οποία έχει ως αποτέλεσμα μια κουτσουρεμένη και μη λειτουργική πρωτεΐνη WT1. Το γονίδιο WT1, κρίσιμο για την ανάπτυξη και τη λειτουργία των νεφρών, μεταλλάσσεται συχνά στον όγκο Wilms, ιδίως σε εκείνους με στρωματικό υπότυπο που παρουσιάζει έκτοπη μεσεγχυματική διαφοροποίηση. Συνεπώς, τα κύτταρα Wilms1 αποτελούν ένα μοναδικό in vitro μοντέλο για τη μελέτη των συνεπειών της απώλειας της λειτουργίας του WT1 στη βιολογία των όγκων.

Η κυτταρική σειρά Wilms1 διατηρεί σταθερό καρυότυπο χωρίς σημαντικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, επιτρέποντας αξιόπιστη μακροχρόνια καλλιέργεια. Τα κύτταρα αυτά εμφανίζουν μεσεγχυματικό φαινότυπο, που χαρακτηρίζεται από την έκφραση της βιμεντίνης και την απουσία επιθηλιακών δεικτών όπως η κυτταροκερατίνη, γεγονός που συνάδει με τη στρωματική τους προέλευση. Επιπλέον, η κυτταρική σειρά επιδεικνύει περιορισμένη αλλά αξιοσημείωτη ικανότητα μεσεγχυματικής διαφοροποίησης, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας διαφοροποίησης σε μυϊκά κύτταρα υπό κατάλληλες συνθήκες. Αυτό καθιστά το Wilms1 ένα ανεκτίμητο εργαλείο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών της μεσεγχυματικής διαφοροποίησης και της απορρύθμισής της στην παθογένεια του όγκου Wilms.

Το Wilms1 έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της κατάστασης ενεργοποίησης βασικών σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στην εξέλιξη του όγκου. Πρωτεομικές αναλύσεις έδειξαν ότι τα κύτταρα Wilms1 παρουσιάζουν φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση διαφόρων κινασών τυροσίνης υποδοχέα, συμπεριλαμβανομένων των EGFR και PDGFRβ, καθώς και των μεταγενέστερων σηματοδοτικών μονοπατιών MAPK. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν τη σημασία της κυτταρικής σειράς Wilms1 για τη διερεύνηση στοχευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων για τον όγκο Wilms μέσω της διερεύνησης του ρόλου αυτών των μονοπατιών στην επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Νεφρός

**Applications** Μοντέλο καλλιέργειας κυττάρων in vitro. Βιοχημικές μελέτες

**Synonyms** Wilms1-2l

## Χαρακτηριστικά

**Age** 2 χρόνια

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Καυκάσιος

**Κύτταρα Wilms1 | 300411****Morphology** Ατρακτοειδές σχήμα**Cell type** Κύτταρα Wilms**Growth properties** Προσκολλημένο**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** Wilms1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300411)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SC**Βιομοριακά δεδομένα****Receptors expressed** Κινάσες τυροσίνης υποδοχέων EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL**Tumorigenic** Ναι, σε γυμνά ποντίκια. Σχηματίζει όγκο με μικρά κύτταρα που συνάδουν με τον όγκο του Wilms (τα ξενομοσχεύματα μπορεί να μην αντιπροσωπεύουν πλήρως τους όγκους του Wilms, βλ. E. Kuncze Stroup 2017)**Viruses** HIV-1: αρνητικό, HBV: αρνητικό, HCV: αρνητικό**Mutational profile** Κατάσταση μετάλλαξης WT1: ομοζυγωτική c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: ετεροζυγωτική TCT>TTT, p.S45F**Karyotype** 46, κανονική**Χειρισμός****Culture Medium** Κιτ MSCGM (από τη Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 ώρες

**Κύτταρα Wilms1 | 300411**

**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  κύτταρα/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 1 έως 2 φορές την εβδομάδα

**Post-Thaw Recovery** Γρήγορη

**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Κύτταρα Wilms1 | 300411****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Κύτταρα Wilms1 | 300411****Shipping  
Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage  
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

**Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA****Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**HLA  
αλληλόμορφα**

**A\***: '03:01:01, '24:02:01  
**B\***: '35:03:01, '38:01:01  
**C\***: '12:03:01  
**DRB1\***: '07:01:01, '14:54:01  
**DQA1\***: '01:04:01, '02:01:01  
**DQB1\***: '02:02:01, '05:03:01  
**DPB1\***: '02:01:02G, '04:02:01G  
**E**: '01:03:01, '01:03:02