

## Κύτταρα Wilms3 | 300414

### Γενικές πληροφορίες

#### Description

Η κυτταρική σειρά Wilms3 δημιουργήθηκε από πρωτοπαθή όγκο Wilms σε παιδιατρικό ασθενή, ο οποίος χαρακτηρίζεται από σωματική μετάλλαξη WT1. Σε αντίθεση με πολλές άλλες κυτταρικές σειρές όγκων Wilms, η Wilms3 φέρει μια ετερόζυγη μετάλλαξη frameshift στο γονίδιο WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), που οδηγεί στην παραγωγή μιας κουτσουρεμένης πρωτεΐνης WT1. Αυτή η μερική απώλεια της λειτουργίας του WT1 σχετίζεται με την ανάπτυξη όγκων που εμφανίζουν στρωματικό ή μεσεγχυματικό φαινότυπο. Ωστόσο, η μετάλλαξη του WT1 στο Wilms3 δεν είναι ομόζυγη, γεγονός που προσθέτει πολυπλοκότητα στη μελέτη του, καθώς διατηρεί κάποια λειτουργία του WT1 που μπορεί να επηρεάσει διαφορετικά τη βιολογία του όγκου σε σύγκριση με τις κυτταρικές σειρές με πλήρη απώλεια του WT1.

Το Wilms3 φέρει επίσης μια μετάλλαξη στο γονίδιο CTNNB1, που επηρεάζει συγκεκριμένα τη θρεονίνη 41 (p.T41A), η οποία διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στο σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt. Η μετάλλαξη αυτή σταθεροποιεί τη β-Catenin, εμποδίζοντας την αποικοδόμησή της και οδηγώντας στη συστατική ενεργοποίηση του μονοπατιού Wnt. Η επίμονη ενεργοποίηση της σηματοδότησης Wnt οδηγεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και συμβάλλει στην καρκινογένεση στο Wilms3, καθιστώντας το βασικό μοντέλο για τη μελέτη των επιπτώσεων των μεταλλάξεων CTNNB1 στο πλαίσιο ενός μερικώς λειτουργικού υποβάθρου WT1.

Φαινοτυπικά, τα κύτταρα Wilms3 παρουσιάζουν μεσεγχυματική μορφολογία, εκφράζοντας βιμεντίνη και χωρίς κυτταροκερατίνη, σε συμφωνία με τα στρωματικά χαρακτηριστικά που παρατηρούνται στον αρχικό όγκο. Τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν περιορισμένο δυναμικό διαφοροποίησης, με την ικανότητα να υφίστανται κάποια μεσεγχυματική διαφοροποίηση υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Οι πρωτεομικές αναλύσεις του Wilms3 αποκάλυψαν την ενεργοποίηση διαφόρων κινάσεων τυροσίνης υποδοχέα (RTKs), συμπεριλαμβανομένων των PDGFRβ και AXL, οι οποίες υποστηρίζουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Επιπλέον, ενεργοποιούνται μεταγενέστερα μονοπάτια σηματοδότησης, όπως οι MAPK και PI3K/AKT, ενισχύοντας τις κακοήθεις ιδιότητες των κυττάρων Wilms3.

Μια μοναδική πτυχή του Wilms3 είναι η μερική λειτουργικότητα του WT1, η οποία παρέχει μια ξεχωριστή προοπτική για το πώς οι μεταλλάξεις του WT1 συμβάλλουν στη βιολογία του όγκου Wilms όταν η μετάλλαξη δεν είναι πλήρης. Η αλληλεπίδραση μεταξύ του WT1 και της σηματοδότησης Wnt στο Wilms3 προσφέρει μια πολύτιμη ευκαιρία για τη μελέτη των διαφοροποιημένων ρόλων που διαδραματίζουν αυτά τα μονοπάτια στην ανάπτυξη των όγκων. Συνολικά, το Wilms3 χρησιμεύει ως ένα σημαντικό μοντέλο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν τον όγκο Wilms παρουσία μερικής απώλειας του WT1 και συστατικής ενεργοποίησης του μονοπατιού Wnt.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Νεφρός

**Disease** Όγκος Wilms

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

### Χαρακτηριστικά

**Age** 11-12 μήνες

**Κύτταρα Wilms3 | 300414**

<b>Gender</b>	Άντρας
<b>Ethnicity</b>	Καυκάσιος
<b>Morphology</b>	Ατρακτοειδές σχήμα
<b>Cell type</b>	Κύτταρα Wilms
<b>Growth properties</b>	Προσκολλημένο

**Ρυθμιστικά δεδομένα**

<b>Citation</b>	Wilms3 (αριθμός καταλόγου Cytion 300414)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A5SF

**Βιομοριακά δεδομένα**

<b>Mutational profile</b>	Κατάσταση μετάλλαξης WT1: ομοζυγωτική c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: άγριος τύπος
---------------------------	--

**Χειρισμός**

<b>Culture Medium</b>	Κιτ MSCGM (από τη Lonza)
-----------------------	--------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	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.
---------------------	--

**Κύτταρα Wilms3 | 300414****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.

**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 κρυοφιαλίδιο 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 κρυοφιαλίδιο 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

**Κύτταρα Wilms3 | 300414****Freezing Procedure**

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.

**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  
**B\*:** '35:01:01, '35:03:01  
**C\*:** '04:01:01  
**DRB1\*:** '04:03:01, '11:04:01  
**DQA1\*:** '03:01:01, '05:05:01  
**DQB1\*:** '03:01:01, '03:02:01  
**DPB1\*:** '01:01:01, '04:01:01  
**E:** '01:03:02, '01:06:01