

Κύτταρα Wilms2 | 300413

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά Wilms2 προήλθε από πρωτοπαθή όγκο Wilms σε παιδιατρικό ασθενή με γεννητική μετάλλαξη WT1. Αυτή η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από μια ομοζυγωτική μετάλλαξη nonsense στο γονίδιο WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), η οποία έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μιας κουτσουρεμένης, μη λειτουργικής πρωτεΐνης WT1. Η απώλεια της λειτουργικής WT1, ενός γονιδίου απαραίτητου για την ανάπτυξη των νεφρών, αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα ορισμένων υποτύπων όγκου Wilms, ιδίως εκείνων που σχετίζονται με μεσεγχυματική ή στρωματική διαφοροποίηση. Η κυτταρική σειρά Wilms2 είναι ένα σημαντικό μοντέλο για τη μελέτη των καρκινικών διαδικασιών που οδηγούνται από την απώλεια του WT1, ιδίως στο πλαίσιο των όγκων Wilms που διατηρούν άλλα κρίσιμα γενετικά χαρακτηριστικά.

Τα κύτταρα Wilms2 φέρουν επίσης μεταλλάξεις στο γονίδιο CTNNB1, το οποίο κωδικοποιεί τη β-κατενίνη, ένα βασικό συστατικό του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt. Αυτές οι μεταλλάξεις, που επηρεάζουν συγκεκριμένα τη σερίνη 45, οδηγούν στη σταθεροποίηση και τη συσσώρευση της β-Catenin, με αποτέλεσμα τη συστατική ενεργοποίηση του μονοπατιού Wnt. Αυτή η ενεργοποίηση αποτελεί γνωστό παράγοντα που οδηγεί στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την καρκινογένεση στον όγκο Wilms, καθιστώντας το Wilms2 ένα πολύτιμο μοντέλο για την κατανόηση του τρόπου με τον οποίο η ανώμαλη σηματοδότηση Wnt συμβάλλει στην ανάπτυξη και την εξέλιξη των όγκων με μεταλλάξεις του WT1.

Όσον αφορά τον φαινότυπο, τα κύτταρα Wilms2 παρουσιάζουν μεσεγχυματική μορφολογία, εκφράζοντας βιμεντίνη και στερούμενα επιθηλιακών δεικτών όπως η κυτταροκερατίνη. Αυτό ευθυγραμμίζεται με τα στρωματικά χαρακτηριστικά του όγκου και υπογραμμίζει το ρόλο του WT1 στη ρύθμιση των μεσεγχυματικών επιθηλιακών μεταβάσεων κατά την ανάπτυξη του νεφρού. Οι πρωτεομικές αναλύσεις του Wilms2 έχουν εντοπίσει την ενεργοποίηση διαφόρων κινάσεων τυροσίνης υποδοχέα (RTKs), συμπεριλαμβανομένων των PDGFRβ και AXL, οι οποίες είναι γνωστό ότι υποστηρίζουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, ενεργοποιούνται επίσης μεταγενέστερα μονοπάτια όπως οι MAPK και PI3K/AKT, συμβάλλοντας περαιτέρω στις κακοήθεις ιδιότητες των κυττάρων Wilms2.

Συνολικά, η κυτταρική σειρά Wilms2 χρησιμεύει ως βασικό εργαλείο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών του όγκου Wilms που οδηγείται από την απώλεια του WT1 και την ανώμαλη σηματοδότηση Wnt. Τα γενετικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της παρέχουν μια ισχυρή πλατφόρμα για τη διερεύνηση πιθανών θεραπευτικών στόχων και για την κατανόηση του ρόλου βασικών σηματοδοτικών οδών στην παθολογία των όγκων Wilms με μεσεγχυματικό συστατικό.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Νεφρός

Disease Όγκος Wilms

Applications Μοντέλο καλλιέργειας κυττάρων in vitro. Βιοχημικές μελέτες

Χαρακτηριστικά

Age 1 έτος

Κύτταρα Wilms2 | 300413

Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Ατρακτοειδές σχήμα
Cell type	Κύτταρα Wilms
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Κατάσταση μετάλλαξης WT1: ομοζυγωτική c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: ετεροζυγωτική del TCT>TAT, p.S45Y
---------------------------	---

Χειρισμός

Culture Medium	Κιτ MSCGM (από τη Lonza)
-----------------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

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.
---------------------	--

Κύτταρα Wilms2 | 300413**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°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°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°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα Wilms2 | 300413**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*: '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