

Sel Wilms2 | 300413

Informasi umum

Description

Garis sel Wilms2 berasal dari tumor Wilms primer pada pasien anak dengan mutasi gen WT1. Garis sel ini dicirikan oleh mutasi nonsense homozigot pada gen WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), yang menghasilkan produksi protein WT1 yang terpotong dan tidak berfungsi. Hilangnya WT1 fungsional, gen yang penting untuk perkembangan ginjal, merupakan ciri khas sub tipe tertentu dari tumor Wilms, terutama yang terkait dengan diferensiasi mesenkim atau stroma. Garis sel Wilms2 adalah model yang signifikan untuk mempelajari proses tumorigenik yang didorong oleh hilangnya WT1, terutama dalam konteks tumor Wilms yang mempertahankan fitur genetik penting lainnya.

Sel Wilms2 juga membawa mutasi pada gen CTNNB1, yang mengkodekan β -Catenin, komponen kunci dari jalur pensinyalan Wnt. Mutasi ini, secara khusus mempengaruhi serin 45, mengarah pada stabilisasi dan akumulasi β -Catenin, menghasilkan aktivasi konstitutif jalur Wnt. Aktivasi ini merupakan pendorong proliferasi sel dan tumorigenesis yang diketahui pada tumor Wilms, menjadikan Wilms2 sebagai model yang berharga untuk memahami bagaimana pensinyalan Wnt yang menyimpang berkontribusi pada perkembangan dan perkembangan tumor dengan mutasi WT1.

Dalam hal fenotipe, sel Wilms2 menunjukkan morfologi seperti mesenkim, mengekspresikan vimentin dan tidak memiliki penanda epitel seperti sitokeratin. Hal ini sesuai dengan karakteristik stroma tumor dan menggarisbawahi peran WT1 dalam mengatur transisi mesenkim-epitel selama perkembangan ginjal. Analisis proteomik Wilms2 telah mengidentifikasi aktivasi beberapa reseptor tirosin kinase (RTK), termasuk PDGFR β dan AXL, yang diketahui mendukung kelangsungan hidup dan proliferasi sel tumor. Selain itu, jalur hilir seperti MAPK dan PI3K/AKT juga diaktifkan, yang selanjutnya berkontribusi pada sifat ganas sel Wilms2.

Secara keseluruhan, garis sel Wilms2 berfungsi sebagai alat penting untuk mengeksplorasi mekanisme molekuler tumor Wilms yang didorong oleh hilangnya WT1 dan pensinyalan Wnt yang menyimpang. Karakteristik genetik dan fenotipiknya menyediakan platform yang kuat untuk menyelidiki target terapeutik potensial dan untuk memahami peran jalur pensinyalan utama dalam patologi tumor Wilms dengan komponen mesenkim.

Organism Manusia

Tissue Ginjal

Disease Tumor Wilms

Applications Model kultur sel in vitro. Studi biokimia

Karakteristik

Age 1 tahun

Gender Laki-laki

Ethnicity Kaukasia

Sel Wilms2 | 300413

Morphology Berbentuk gelendong

Cell type Sel Wilms

Growth properties Patuh

Data Peraturan

Citation Wilms2 (nomor katalog Cytion 300413)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SE

Data Biomolekuler

Mutational profile Status mutasi WT1: homozigot c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, status mutasi CTNNB1: heterozigot del TCT>TAT, p.S45Y

Penanganan

Culture Medium Kit MSCGM (dari Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Freeze medium Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel Wilms2 | 300413

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel Wilms2 | 300413

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Alel 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