

Wilms2-celler | 300413

Generell informasjon

Description

Wilms2-cellelinjen ble avledet fra en primær Wilms-svulst hos en pediatrik pasient med en germinal WT1-mutasjon. Denne cellelinjen er karakterisert av en homozygot nonsensmutasjon i WT1-genet (c.1084 C>T, p.R362X), noe som resulterer i produksjon av et avkortet, ikke-funksjonelt WT1-protein. Tap av funksjonelt WT1, et gen som er essensielt for nyreutvikling, er et kjennetegn ved visse undertyper av Wilms-svulster, særlig de som er assosiert med mesenkymal eller stromal differensiering. Wilms2-cellelinjen er en viktig modell for å studere de tumorgenetiske prosessene som drives av WT1-tap, spesielt i sammenheng med Wilms-svulster som beholder andre kritiske genetiske trekk.

Wilms2-celler bærer også mutasjoner i CTNNB1-genet, som koder for β -Catenin, en nøkkelkomponent i Wnt-signalveien. Disse mutasjonene, som spesifikt påvirker serin 45, fører til stabilisering og akkumulering av β -Catenin, noe som resulterer i en konstitutiv aktivering av Wnt-signalveien. Denne aktiveringen er en kjent drivkraft for celleproliferasjon og tumorutvikling i Wilms-svulster, noe som gjør Wilms2 til en verdifull modell for å forstå hvordan avvikende Wnt-signalerer bidrar til utvikling og progresjon av svulster med WT1-mutasjoner.

Når det gjelder fenotype, har Wilms2-celler en mesenkymal lignende morfologi, som uttrykker vimentin og mangler epitelmarkører som cytokeratin. Dette stemmer overens med svulstens stromale egenskaper og understreker WT1s rolle i reguleringen av mesenkym-epitelovergangen under nyreutviklingen. Proteomanalyser av Wilms2 har identifisert aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), inkludert PDGFR β og AXL, som er kjent for å bidra til overlevelse og spredning av tumorceller. I tillegg aktiveres også nedstrøms signalveier som MAPK og PI3K/AKT, noe som bidrar ytterligere til Wilms2-cellenes ondartede egenskaper.

Wilms2-cellelinjen er et viktig verktøy for å utforske de molekylære mekanismene bak Wilms-svulster som skyldes tap av WT1 og avvikende Wnt-signalerer. Cellelinjens genetiske og fenotypiske egenskaper gir en robust plattform for å undersøke potensielle terapeutiske mål og for å forstå hvilken rolle viktige signalveier spiller i patologien til Wilms-svulster med en mesenkymal komponent.

Organism Menneskelig

Tissue Nyre

Disease Wilms-svulst

Applications In vitro-cellekulturmodell. Biokjemiske studier

Kjennetegn

Age 1 år

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Spindelformet

Wilms2-celler | 300413**Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** Wilms2 (Cytion katalognummer 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SE**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekylære data****Mutational profile** WT1-mutasjonsstatus: homozygot c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutasjonsstatus: heterozygot del TCT>TAT, p.S45Y**Håndtering****Culture Medium** MSCGM-sett (fra Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Wilms2-celler | 300413

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Wilms2-celler | 300413**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,11
D13S317: 9,11
D16S539: 9,9
D5S818: 11,11
D7S820: 10,11
TH01: 6,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,19
D3S1358: 15,15
D21S11: 29,32.2
D18S51: 12,17
Penta E: 11,15
Penta D: 10,12
D8S1179: 14,16
FGA: 21,21

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