

## Celule Wilms2 | 300413

## Informații generale

## Description

Linia celulară Wilms2 a fost derivată dintr-o tumoră Wilms primară la un pacient pediatric cu o mutație germinală WT1. Această linie celulară este caracterizată de o mutație homozigotă fără sens în gena WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), care duce la producerea unei proteine WT1 trunchiate, nefuncționale. Pierderea funcției WT1, o genă esențială pentru dezvoltarea rinichilor, este un semn distinctiv al anumitor subtipuri de tumori Wilms, în special cele asociate cu diferențierea mezenchimală sau stromală. Linia celulară Wilms2 este un model semnificativ pentru studierea proceselor tumorigene determinate de pierderea WT1, în special în contextul tumorilor Wilms care păstrează alte caracteristici genetice esențiale.

Celulele Wilms2 prezintă, de asemenea, mutații în gena CTNNB1, care codifică  $\beta$ -Catenina, o componentă-cheie a căii de semnalizare Wnt. Aceste mutații, care afectează în mod specific serina 45, conduc la stabilizarea și acumularea  $\beta$ -Cateninei, rezultând în activarea constitutivă a căii Wnt. Această activare este un motor cunoscut al proliferării celulare și al tumorigenezei în tumoarea Wilms, făcând din Wilms2 un model valoros pentru înțelegerea modului în care semnalizarea Wnt aberantă contribuie la dezvoltarea și progresia tumorilor cu mutații WT1.

În ceea ce privește fenotipul, celulele Wilms2 prezintă o morfologie de tip mezenchimal, exprimând vimentină și fiind lipsite de markeri epiteliali precum citokeratina. Acest lucru se aliniază cu caracteristicile stromale ale tumorii și subliniază rolul WT1 în reglarea tranzițiilor mezenchimale-epiteliale în timpul dezvoltării rinichilor. Analizele proteomice ale Wilms2 au identificat activarea mai multor receptoare tirosin kinaze (RTK), inclusiv PDGFR $\beta$  și AXL, care sunt cunoscute pentru a susține supraviețuirea și proliferarea celulelor tumorale. În plus, căile din aval, cum ar fi MAPK și PI3K/AKT, sunt de asemenea activate, contribuind în continuare la proprietățile maligne ale celulelor Wilms2.

În general, linia celulară Wilms2 servește drept instrument esențial pentru explorarea mecanismelor moleculare ale tumorii Wilms determinate de pierderea WT1 și de semnalizarea Wnt aberantă. Caracteristicile sale genetice și fenotipice oferă o platformă robustă pentru investigarea potențialelor ținte terapeutice și pentru înțelegerea rolului căilor de semnalizare cheie în patologia tumorilor Wilms cu o componentă mezenchimală.

**Organism** Om

**Tissue** Rinichi

**Disease** Tumora Wilms

**Applications** Model de cultură celulară in vitro. Studii biochimice

## Caracteristici

**Age** 1 an

**Gender** Masculin

**Ethnicity** Caucazian

**Celule Wilms2 | 300413****Morphology** În formă de fus**Cell type** Celule Wilms**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** Wilms2 (număr de catalog Cytion 300413)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SE**Date biomoleculare****Mutational profile** Statutul mutației WT1: homozigot c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, Statutul mutației CTNNB1: heterozigot del TCT>TAT, p.S45Y**Manipulare****Culture Medium** Kit MSCGM (de la Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

**Celule Wilms2 | 300413****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosferă umidificată.

**Flask Coating**

Niciuna

**Freezing  
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping  
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

## Celule Wilms2 | 300413

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

### Alele 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