

Celice Wilms2 | 300413

Splošne informacije

Description

Celična linija Wilms2 je bila pridobljena iz primarnega Wilmsovega tumorja pri pediatričnem bolniku z zarodno mutacijo WT1. Za to celično linijo je značilna homozigotna nonsense mutacija v genu WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), zaradi katere nastaja skrajšana, nefunkcionalna beljakovina WT1. Izguba funkcionalnega proteina WT1, gena, ki je bistvenega pomena za razvoj ledvic, je značilna za nekatere podtipe Wilmsovega tumorja, zlasti tiste, ki so povezani z mezenhimsko ali stromalno diferenciacijo. Celična linija Wilms2 je pomemben model za preučevanje tumorigenih procesov, ki jih povzroča izguba WT1, zlasti v okviru tumorjev Wilms, ki ohranjajo druge kritične genetske značilnosti.

Celice Wilms2 imajo tudi mutacije v genu CTNNB1, ki kodira β -katenin, ključno sestavino signalne poti Wnt. Te mutacije, ki prizadenejo predvsem serin 45, povzročijo stabilizacijo in kopičenje β -katenina, kar vodi do konstitutivne aktivacije poti Wnt. Ta aktivacija je znano gonilo celične proliferacije in tumorigeneze v Wilmsovem tumorju, zato je Wilms2 dragocen model za razumevanje, kako aberantna signalizacija Wnt prispeva k razvoju in napredovanju tumorjev z mutacijami WT1.

Po fenotipu imajo celice Wilms2 mezenhimsko morfolgijo, izražajo vimentin in nimajo epitelijskih označevalcev, kot je citokeratin. To se ujema s stromalnimi značilnostmi tumorja in poudarja vlogo WT1 pri uravnavanju mezenhimsko-epitelijskih prehodov med razvojem ledvic. Proteomske analize Wilms2 so pokazale aktivacijo več receptorskih tirozinskih kinaz (RTK), vključno s PDGFR β in AXL, za katere je znano, da podpirajo preživetje in proliferacijo tumorskih celic. Poleg tega se aktivirajo tudi nadaljnje poti, kot sta MAPK in PI3K/AKT, kar dodatno prispeva k malignim lastnostim celic Wilms2.

Na splošno je celična linija Wilms2 pomembno orodje za raziskovanje molekularnih mehanizmov tumorja Wilms, ki ga povzročata izguba WT1 in aberantna signalizacija Wnt. Njene genetske in fenotipske značilnosti zagotavljajo zanesljivo platformo za raziskovanje potencialnih terapevtskih ciljev in razumevanje vloge ključnih signalnih poti v patologiji tumorjev Wilms z mezenhimsko komponento.

Organism Človek

Tissue Ledvice

Disease Wilmsov tumor

Applications In vitro model celične kulture. Biokemične študije

Značilnosti

Age 1 leto

Gender Moški

Ethnicity Kavkaški

Morphology Vretenasta oblika

Celice Wilms2 | 300413**Cell type** Wilmsove celice**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** Wilms2 (kataloška številka Cytion 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SE**Biomolekularni podatki****Mutational profile** Status mutacije WT1: homozigotna c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, status mutacije CTNNB1: heterozigotna del TCT>TAT, p.S45Y**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** Komplet MSCGM (Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice Wilms2 | 300413

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice Wilms2 | 300413

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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