

Клітини Wilms2 | 300413

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія Wilms2 була отримана з первинної пухлини Вільмса у педіатричного пацієнта з мутацією зародкової лінії WT1. Ця клітинна лінія характеризується гомозиготною нонсенс-мутацією в гені WT1 (с.1084 C>T, р.R362X), що призводить до утворення усиченого, нефункціонального білка WT1. Втрата функціонального WT1, гена, необхідного для розвитку нирок, є характерною ознакою певних підтипів пухлини Вільмса, особливо тих, що пов'язані з мезенхімальним або стромальним диференціюванням. Клітинна лінія Wilms2 є важливою моделлю для вивчення пухлинних процесів, зумовлених втратою WT1, особливо в контексті пухлин Вільмса, які зберігають інші критичні генетичні особливості.

Клітини лінії Wilms2 також несуть мутації в гені CTNNB1, який кодує β-катенін, ключовий компонент сигнального шляху Wnt. Ці мутації, що конкретно впливають на серин 45, призводять до стабілізації та накопичення β-катеніну, що призводить до конститутивної активації шляху Wnt. Ця активація є відомим фактором проліферації клітин і пухлиноутворення в пухлині Вільмса, що робить Wilms2 цінною моделлю для розуміння того, як аберантна сигналізація Wnt сприяє розвитку і прогресуванню пухлин з мутаціями WT1.

З точки зору фенотипу, клітини Wilms2 демонструють мезенхімальну морфологію, експресують віментин і не мають епітеліальних маркерів, таких як цитокератин. Це узгоджується зі стромальними характеристиками пухлини і підкреслює роль WT1 в регуляції мезенхімально-епітеліального переходу під час розвитку нирок. Протеомний аналіз Wilms2 виявив активацію декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), включаючи PDGFRβ і AXL, які, як відомо, підтримують виживання і проліферацію пухлинних клітин. Крім того, активуються наступні шляхи, такі як MAPK і PI3K/AKT, що ще більше посилює злаякісні властивості клітин лінії Wilms2.

В цілому, клітинна лінія Wilms2 слугує важливим інструментом для вивчення молекулярних механізмів пухлини Вільмса, зумовлених втратою WT1 та аберантною сигналізацією Wnt. Її генетичні та фенотипічні характеристики забезпечують надійну платформу для дослідження потенційних терапевтичних мішеней і розуміння ролі ключових сигнальних шляхів у патології пухлин Вільмса з мезенхімальним компонентом.

Organism Людина

Tissue Нирка

Disease Пухлина Вільмса

Applications Модель культури клітин in vitro. Біохімічні дослідження

Характеристики

Age 1 рік

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Клітини Wilms2 | 300413

Morphology Веретеноподібна форма

Cell type Клітини Вільмса

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation Wilms2 (номер за каталогом Cytion 300413)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SE

Біомолекулярні дані

Mutational profile Статус мутації WT1: гомозиготний c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, статус мутації CTNNB1: гетерозиготний del TCT>TAT, p.S45Y

Обробка

Culture Medium Комплект MSCGM (від Lonza)

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини Wilms2 | 300413

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини Wilms2 | 300413

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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