# Wilms2

300413

## VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

### Apraksts

Wilms2 šūnu līnija tika iegūta no primārā Wilms audzēja pediatriska pacienta ar WT1 dzimumlīniju mutāciju. Šai šūnu līnijai ir raksturīga homozigotiska nonsensa mutācija WT1 gēnā (c.1084 C>T, p.R362X), kuras rezultātā veidojas saīsināts, nefunkcionāls WT1 proteīns. Funkcionālā WT1, kas ir nieru attīstībai būtisks gēns, zudums ir raksturīga dažu Vilmsa audzēja apakštipu, jo īpaši to, kas saistīti ar mezenhīmu vai stromālo diferenciāciju, pazīme. Wilms2 šūnu līnija ir nozīmīgs modelis, lai pētītu WT1 zuduma izraisītos audzēja veidošanas procesus, jo īpaši saistībā ar Wilms audzējiem, kas saglabā citas kritiskas ģenētiskās iezīmes.
Wilms2 šūnās ir arī mutācijas CTNNB1 gēnā, kas kodē β-Catenin, galveno Wnt signalizācijas ceļa sastāvdaļu. Šīs mutācijas, kas īpaši ietekmē 45. serīnu, izraisa β-Catenin stabilizāciju un uzkrāšanos, kā rezultātā konstitūvi aktivizējas Wnt ceļš. Ir zināms, ka šī aktivizācija ir Vilmsa audzēja šūnu proliferācijas un audzēja rašanās virzītājspēks, tāpēc Wilms2 ir vērtīgs modelis, lai saprastu, kā aberantā Wnt signalizācija veicina audzēju ar WT1 mutācijām attīstību un progresēšanu.
Pēc fenotipa Wilms2 šūnām ir mezenhīmiska morfoloģija, tās ekspresē vimentīnu un tām trūkst epitēlija marķieru, piemēram, citokeratīna. Tas atbilst audzēja stromas īpašībām un uzsver WT1 lomu mezenhīma-epitēlija pāreju regulēšanā nieru attīstības laikā. Wilms2 proteomikas analīzēs ir konstatēta vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp PDGFRβ un AXL, aktivācija, kas, kā zināms, veicina audzēja šūnu izdzīvošanu un proliferāciju. Turklāt tiek aktivizēti arī tādi pakārtotie ceļi kā MAPK un PI3K/AKT, kas vēl vairāk veicina Wilms2 šūnu ļaundabīgās īpašības.
Kopumā Wilms2 šūnu līnija kalpo kā būtisks rīks, lai izpētītu molekulāros mehānismus Wilms audzējiem, ko izraisa WT1 zudums un aberatīva Wnt signalizācija. Tās ģenētiskās un fenotipiskās īpašības nodrošina stabilu platformu potenciālo terapeitisko mērķu izpētei un izpratnei par galveno signālu ceļu lomu Vilmsa audzēju ar mezenhimālo komponentu patoloģijā.

| | |
|---|---|
| **Audums** | Nieres |
| **Slimība** | Vilmsa audzējs |

### Pieteikumi

In vitro šūnu kultūras modelis. Bioķīmiskie pētījumi

## KLASIFIKĀCIJA

| | |
|---|---|
| **Organisms** | Cilvēks |
| **Sekss** | Vīrietis |
| **Augšanas īpašības** | Atbalstītājs |
| **Bioloģiskās drošības līmenis** | 1 |

## RAKSTURLIELUMI

| | |
|---|---|
| **Morfoloģija** | Vārpstas formas |
| **Šūnu tips** | Vilmsa šūnas |

## IDENTIFIKATORI

### Atsauce

Wilms2 (Cytion kataloga numurs 300413)

| | |
|---|---|
| **NCBI nodokļu identifikācijas numurs** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_A5SE |

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

## PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

### Mutāciju profils

WT1 mutācijas statuss: homozigotiska c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutācijas statuss: heterozigotiska del TCT>TAT, p.S45Y

## APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

### Barotne

MSCGM komplekts (no Lonza)

| | |
|---|---|
| **Inkubācijas vide** | 37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra. |
| **Disociācijas reaģents** | Accutase |

### Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

### Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

## KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

### Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

| | |
|---|---|
| **Saldēšanas barotne** | Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu. |

### Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

### Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## ZIEDOTĀJS

| | |
|---|---|
| **Donora vecums** | 1 gads |
| **Etniskā piederība** | Kaukāzietis |

## JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

### Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

### Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/''/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

| | |
|---|---|
| **Nepieciešams materiālu nodošanas līgums** | Yes |