Product sheet

Κύτταρα Wilms10M | 300418

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά Wilms10M δημιουργήθηκε από μεταστατικό πνευμονικό όζο ασθενούς με όγκο Wilms (νεφροβλάστωμα). Όπως και ο αντίστοιχος πρωτοπαθής όγκος, Wilms10T, η κυτταρική σειρά Wilms10M χαρακτηρίζεται από ομόζυγη διαγραφή του γονιδίου WT1, με αποτέλεσμα την πλήρη απουσία της πρωτεΐνης WT1. Το WT1 είναι απαραίτητο για τη φυσιολογική ανάπτυξη των νεφρών και η διαγραφή του σχετίζεται με πιο επιθετική συμπεριφορά του όγκου, ιδίως σε μεταστατικές καταστάσεις. Επιπλέον, τα κύτταρα Wilms10M παρουσιάζουν απώλεια ετεροζυγωτίας (LOH) στη χρωμοσωμική περιοχή 11p15, η οποία περιλαμβάνει το γονίδιο IGF2, συμβάλλοντας περαιτέρω στις κακοήθεις ιδιότητες αυτών των κυττάρων. Τα κύτταρα Wilms10M διατηρούν σταθερό καρυότυπο χωρίς σημαντικές χρωμοσωμικές αναδιατάξεις, εκτός από τη συγκεκριμένη διαγραφή της περιοχής WT1. Αυτή η κυτταρική σειρά, που προέρχεται από μεταστατικό ιστό, είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών που οδηγούν στη μετάσταση στον όγκο Wilms. Τα κύτταρα εμφανίζουν μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά, εκφράζοντας δείκτες όπως η βιμεντίνη, ενώ στερούνται επιθηλιακών δεικτών όπως η κυτταροκερατίνη, γεγονός που είναι ενδεικτικό της προέλευσής τους από το στρωματικό συστατικό του όγκου. Η έρευνα σχετικά με το Wilms10M έχει επικεντρωθεί στα σηματοδοτικά μονοπάτια που είναι ενεργά σε αυτά τα μεταστατικά κύτταρα. Πρωτεομικές αναλύσεις έχουν καταδείξει την ενεργοποίηση διαφόρων κινάσων τυροσίνης υποδοχέα (RTKs), συμπεριλαμβανομένων των IGF1R, PDGFRβ και AXL, οι οποίες εμπλέκονται στην προώθηση της επιβίωσης των κυττάρων, του πολλαπλασιασμού και του μεταστατικού δυναμικού. Ενεργοποιούνται επίσης τα μεταγενέστερα μονοπάτια σηματοδότησης MAPK και PI3K/AKT, τα οποία διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη διατήρηση του διεισδυτικού και μεταστατικού φαινοτύπου των κυττάρων Wilms10M. Δεδομένης της μεταστατικής του προέλευσης, το Wilms10M είναι ένα ουσιαστικό μοντέλο για την κατανόηση των μοριακών γεγονότων που διέπουν τη μετάσταση του όγκου Wilms και για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπευτικών στρατηγικών κατά της μεταστατικής νόσου.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Νεφρός
Disease	Όγκος Wilms
Applications	Μοντέλο καλλιέργειας κυττάρων in vitro. Βιοχημικές μελέτες
Synonyms	Wilms10

Χαρακτηριστικά

Age	2 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος

Κύτταρα Wilms10M | 300418

Morphology	Ατρακτοειδές σχήμα
Cell type	Κύτταρα Wilms
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Wilms10M (αριθμός καταλόγου Cytion 300418)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SL

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Κατάσταση μετάλλαξης του WT1: ομοζυγωτικό del WT1 εντός του del11p13. LOH: όχι στο 11p13 αλλά UPD στο 11p15. Κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: ομοζυγωτική del TCT, p.DS45, UPD 3p

Χειρισμός

Culture Medium	Κιτ MSCGM (από τη Lonza)
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα Wilms10M | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα Wilms10M | 300418

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.