Product sheet

Κύτταρα Wilms1 | 300411

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά Wilms1 προήλθε από πρωτογενές δείγμα όγκου Wilms που ελήφθη από ασθενή με μεγάλους αμφοτερόπλευρους νεφρικούς όγκους, ενδεικτικούς του όγκου Wilms, ενός παιδιατρικού νεφροβλαστώματος. Αυτή η κυτταρική σειρά φέρει μια ομοζυγωτική μετάλλαξη nonsense στο γονίδιο WT1 (c.149 C>A, p.S50X), η οποία έχει ως αποτέλεσμα μια κουτσουρεμένη και μη λειτουργική πρωτεΐνη WT1. Το γονίδιο WT1, κρίσιμο για την ανάπτυξη και τη λειτουργία των νεφρών, μεταλλάσσεται συχνά στον όγκο Wilms, ιδίως σε εκείνους με στρωματικό υπότυπο που παρουσιάζει έκτοπη μεσεγχυματική διαφοροποίηση. Συνεπώς, τα κύτταρα Wilms1 αποτελούν ένα μοναδικό in vitro μοντέλο για τη μελέτη των συνεπειών της απώλειας της λειτουργίας του WT1 στη βιολογία των όγκων. Η κυτταρική σειρά Wilms1 διατηρεί σταθερό καρυότυπο χωρίς σημαντικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, επιτρέποντας αξιόπιστη μακροχρόνια καλλιέργεια. Τα κύτταρα αυτά εμφανίζουν μεσεγχυματικό φαινότυπο, που χαρακτηρίζεται από την έκφραση της βιμεντίνης και την απουσία επιθηλιακών δεικτών όπως η κυτταροκερατίνη, γεγονός που συνάδει με τη στρωματική τους προέλευση. Επιπλέον, η κυτταρική σειρά επιδεικνύει περιορισμένη αλλά αξιοσημείωτη ικανότητα μεσεγχυματικής διαφοροποίησης, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας διαφοροποίησης σε μυϊκά κύτταρα υπό κατάλληλες συνθήκες. Αυτό καθιστά το Wilms1 ένα ανεκτίμητο εργαλείο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών της μεσεγχυματικής διαφοροποίησης και της απορρύθμισής της στην παθογένεια του όγκου Wilms. Το Wilms1 έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της κατάστασης ενεργοποίησης βασικών σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στην εξέλιξη του όγκου. Πρωτεομικές αναλύσεις έδειξαν ότι τα κύτταρα Wilms1 παρουσιάζουν φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση διαφόρων κινασών τυροσίνης υποδοχέα, συμπεριλαμβανομένων των EGFR και PDGFRβ, καθώς και των μεταγενέστερων σηματοδοτικών μονοπατιών MAPK. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν τη σημασία της κυτταρικής σειράς Wilms1 για τη διερεύνηση στοχευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων για τον όγκο Wilms μέσω της διερεύνησης του ρόλου αυτών των μονοπατιών στην επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Νεφρός
Applications	Μοντέλο καλλιέργειας κυττάρων in vitro. Βιοχημικές μελέτες
Synonyms	Wilms1-2l

Χαρακτηριστικά

Age	2 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος

Κύτταρα Wilms1 | 300411

Morphology	Ατρακτοειδές σχήμα
Cell type	Κύτταρα Wilms
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Wilms1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300411)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SC

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Κινάσες τυροσίνης υποδοχέων EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια. Σχηματίζει όγκο με μικρά κύτταρα που συνάδουν με τον όγκο του Wilms (τα ξενομοσχεύματα μπορεί να μην αντιπροσωπεύουν πλήρως τους όγκους του Wilms, βλ. E. Kunce Stroup 2017)
Viruses	HIV-1: αρνητικό, HBV: αρνητικό, HCV: αρνητικό
Mutational profile	Κατάσταση μετάλλαξης WT1: ομοζυγωτική c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: ετεροζυγωτική TCT>TTT, p.S45F
Karyotype	46, κανονική

Χειρισμός

Culture Medium	Κιτ MSCGM (από τη Lonza)
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 ώρες

Κύτταρα Wilms1 | 300411

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.
Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	1 έως 2 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Γρήγορη
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 Wilms1 | 300411

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 Wilms1 | 300411

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.
HLA αλληλόμορφα	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '35:03:01, '38:01:01 **C***: '12:03:01 **DRB1***: '07:01:01, '14:54:01 **DQA1***: '01:04:01, '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01, '05:03:01 **DPB1***: '02:01:02G, '04:02:01G **E**: '01:03:01, '01:03:02