Product sheet

Κύτταρα Wilms10T | 300417

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά Wilms10T προήλθε από πρωτογενές δείγμα όγκου Wilms που ελήφθη από ασθενή με όγκο Wilms, ένα παιδιατρικό νεφροβλάστωμα. Αυτή η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από ομόζυγη διαγραφή του γονιδίου WT1, που οδηγεί σε πλήρη απώλεια της λειτουργίας του WT1, ενός κρίσιμου γονιδίου που εμπλέκεται στην ανάπτυξη των νεφρών και στη διατήρηση της φυσιολογικής νεφρικής διαφοροποίησης. Σε αντίθεση με πολλές άλλες κυτταρικές σειρές όγκου Wilms, η Wilms10T δεν διαθέτει έκφραση της πρωτεΐνης WT1, γεγονός που αντικατοπτρίζει τις σοβαρές γενετικές αλλοιώσεις που υπάρχουν σε αυτόν τον υπότυπο όγκου. Επιπλέον, η κυτταρική σειρά Wilms10T παρουσιάζει απώλεια ετεροζυγωτίας (LOH) στη χρωμοσωμική περιοχή 11p15, η οποία περιλαμβάνει σημαντικά γονίδια όπως ο IGF2, συμβάλλοντας περαιτέρω στις καρκινικές της ιδιότητες. Τα κύτταρα Wilms10T έχουν σταθερό φυσιολογικό καρυότυπο χωρίς σημαντικές χρωμοσωμικές αναδιατάξεις, εκτός από τη συγκεκριμένη διαγραφή της περιοχής WT1. Αυτή η κυτταρική σειρά έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για τη μελέτη των επιδράσεων της πλήρους απώλειας του WT1 στη βιολογία των όγκων, συμπεριλαμβανομένης της επίδρασής της στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την απόκριση σε διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια. Τα κύτταρα διατηρούν μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά, εκφράζοντας δείκτες όπως η βιμεντίνη, ενώ στερούνται επιθηλιακών δεικτών όπως η κυτταροκερατίνη, ενδεικτικό της στρωματικής τους προέλευσης. Σημαντική έρευνα έχει επικεντρωθεί στα σηματοδοτικά μονοπάτια που είναι ενεργά στα κύτταρα Wilms10T. Πρωτεομικές μελέτες έχουν καταδείξει ότι τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν ενεργοποίηση πολλών κινάσων τυροσίνης υποδοχέα (RTKs), όπως IGF1R, PDGFRβ και AXL, οι οποίες είναι γνωστό ότι οδηγούν στην καρκινογένεση. Επιπλέον, τα μεταγενέστερα μονοπάτια σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένων των μονοπατιών MAPK και PI3K/AKT, ενεργοποιούνται στα κύτταρα Wilms10T, συμβάλλοντας στον επιθετικό καρκινικό τους φαινότυπο. Ο ολοκληρωμένος χαρακτηρισμός του Wilms10T το καθιστά πολύτιμο μοντέλο για τη διερεύνηση των μοριακών υποβάθρων του όγκου Wilms με πλήρη απώλεια του WT1, καθώς και για τη διερεύνηση πιθανών θεραπευτικών στόχων σε αυτόν τον επιθετικό υποτύπο όγκου.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Νεφρός
Disease	Όγκος Wilms
Applications	Μοντέλο κυτταρικής καλλιέργειας in vitro και βιοχημικές μελέτες
Synonyms	Wilms10

Χαρακτηριστικά

Age	2 χρόνια
Gender	Γυναίκα

Κύτταρα Wilms10T | 300417

Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Ατρακτοειδές σχήμα
Cell type	Κύτταρα Wilms
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Wilms10T (αριθμός καταλόγου Cytion 300417)
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
Doubling time	46 ώρες
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.

Κύτταρα Wilms10T | 300417

Seeding density	4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	1 έως 2 φορές την εβδομάδα
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.

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.

Κύτταρα Wilms10T | 300417

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.
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***: '01:01:01, '11:01:01 **B***: '18:01:01, '27:05:02 **C***: '01:02:01, '12:03:01 **DRB1***: '01:01:01, '11:04:01 **DQA1***: '01:01:01, '05:05:01 **DQB1***: '03:01:01, '05:01:01 **DPB1***: '04:01:01G, '04:02:01G **E**: '01:01:01