Product sheet

Κύτταρα Wilms6 | 300415

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά Wilms6 δημιουργήθηκε από πρωτοπαθή όγκο Wilms σε παιδιατρικό ασθενή με γεννητική μετάλλαξη WT1. Αυτή η κυτταρική σειρά καθορίζεται από μια ομόζυγη μετάλλαξη μη-νοήματος στο γονίδιο WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), η οποία οδηγεί σε μια κουτσουρεμένη και μη λειτουργική πρωτεΐνη WT1. Η WT1 είναι ένας κρίσιμος ρυθμιστής της ανάπτυξης των νεφρών και η απώλειά της συνδέεται στενά με τον όγκο Wilms, ιδίως σε περιπτώσεις που εμφανίζουν μεσεγχυματική διαφοροποίηση. Η κυτταρική σειρά Wilms6 αποτελεί σημαντικό μοντέλο για τη μελέτη των καρκινικών επιδράσεων της πλήρους απώλειας της WT1, ιδίως στο πλαίσιο όγκων που εμφανίζουν τόσο επιθηλιακά όσο και μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά. Τα κύτταρα Wilms6 φέρουν επίσης μια μετάλλαξη στο γονίδιο CTNNB1, που επηρεάζει συγκεκριμένα τη σερίνη 45 (p.S45F), μια βασική θέση φωσφορυλίωσης που ρυθμίζει την αποικοδόμηση της β-κατενίνης. Η μετάλλαξη αυτή οδηγεί στη σταθεροποίηση και την πυρηνική συσσώρευση της β-Catenin, με αποτέλεσμα τη συστατική ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt. Η παρεκκλίνουσα ενεργοποίηση της σηματοδότησης Wnt είναι ένας γνωστός παράγοντας που οδηγεί στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την καρκινογένεση στους όγκους Wilms, καθιστώντας το Wilms6 ένα πολύτιμο εργαλείο για τη διερεύνηση του ρόλου της απορρύθμισης του μονοπατιού Wnt σε όγκους με μεταλλάξεις του WT1. Φαινοτυπικά, τα κύτταρα Wilms6 εμφανίζουν μεσεγχυματική μορφολογία, με έντονη έκφραση της βιμεντίνης και απουσία επιθηλιακών δεικτών όπως η κυτταροκερατίνη, γεγονός που αντανακλά τη στρωματική φύση του αρχικού όγκου. Τα κύτταρα αυτά έχει αποδειχθεί ότι διαθέτουν περιορισμένη αλλά αξιοσημείωτη δυνατότητα διαφοροποίησης, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας διαφοροποίησης σε μυϊκά κύτταρα υπό συγκεκριμένες συνθήκες, η οποία αντικατοπτρίζει τη μεσεγχυματική διαφοροποίηση που παρατηρείται σε ορισμένους όγκους Wilms. Οι πρωτεομικές μελέτες του Wilms6 έχουν εντοπίσει την ενεργοποίηση πολλαπλών κινασών τυροσίνης υποδοχέα (RTKs), συμπεριλαμβανομένων των PDGFRβ και AXL, οι οποίες εμπλέκονται στην προώθηση της επιβίωσης, του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των κυττάρων. Η κατάντη ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών όπως οι MAPK και PI3K/AKT υπογραμμίζει περαιτέρω την επιθετική φύση αυτής της κυτταρικής σειράς. Συνολικά, η κυτταρική σειρά Wilms6 χρησιμεύει ως κρίσιμο μοντέλο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την ανάπτυξη του όγκου Wilms, ιδίως σε περιπτώσεις πλήρους απώλειας του WT1 σε συνδυασμό με ενεργοποίηση της σηματοδότησης Wnt. Τα γενετικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της την καθιστούν μια εξαιρετική πλατφόρμα για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ της έλλειψης WT1 και των ανώμαλων σηματοδοτικών μονοπατιών, παρέχοντας πληροφορίες για πιθανούς θεραπευτικούς στόχους για αυτόν τον επιθετικό τύπο όγκου.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Νεφρός
Disease	Όγκος Wilms
Applications	Μοντέλο καλλιέργειας κυττάρων in vitro. Βιοχημικές μελέτες

Χαρακτηριστικά

Κύτταρα Wilms6 | 300415

Age	15 μήνες
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Ατρακτοειδές σχήμα
Cell type	Κύτταρα Wilms
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Wilms6 (αριθμός καταλόγου Cytion 300415)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SI

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Κατάσταση μετάλλαξης WT1: ομοζυγωτική c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: ομοζυγωτική del TCT, p.DS45

Χειρισμός

Culture Medium	Κιτ MSCGM (από τη Lonza)
Dissociation Reagent	Accutase

Κύτταρα Wilms6 | 300415

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.

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.

Κύτταρα Wilms6 | 300415

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.
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***: '02:05:01, '29:01:01 **B***: '07:05:01, '13:02:01 **C***: '06:02:01, '15:05:02 **DRB1***: '07:01:01, '10:01:01 **DQA1***: '01:05:01, '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01, '05:01:01 **DPB1***: '04:02:01, '17:01:01 **E**: '01:01:01