Product sheet

Κύτταρα Wilms11 | 300420

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά Wilms11 προήλθε από πρωτοπαθή όγκο Wilms (νεφροβλάστωμα) σε παιδιατρικό ασθενή. Σε αντίθεση με πολλές άλλες κυτταρικές σειρές όγκων Wilms, η Wilms11 χαρακτηρίζεται από την παρουσία του WT1 άγριου τύπου, δηλαδή δεν φέρει μεταλλάξεις στο γονίδιο WT1, οι οποίες συνήθως σχετίζονται με όγκους Wilms που παρουσιάζουν πιο επιθετικούς ή στρωματικούς φαινότυπους. Ωστόσο, ο όγκος Wilms11 παρουσίαζε σημαντική στρωματική διαφοροποίηση, με μεγάλες περιοχές ραβδομυωματικής διαφοροποίησης, ενδεικτικές μεσεγχυματικών στοιχείων εντός του όγκου. Η παρουσία του WT1 άγριου τύπου, σε συνδυασμό με τη στρωματική διαφοροποίηση του όγκου, παρέχει ένα μοναδικό μοντέλο για την κατανόηση της βιολογίας του όγκου Wilms σε περιπτώσεις όπου οι μεταλλάξεις του WT1 απουσιάζουν. Γενετικές μελέτες του Wilms11 έδειξαν ότι αυτή η κυτταρική σειρά φέρει μια ειδική για τον όγκο μετάλλαξη στο CTNNB1, το γονίδιο που κωδικοποιεί τη β-κατενίνη, η οποία διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη σηματοδοτική οδό Wnt. Στο Wilms11, η μετάλλαξη αυτή επηρεάζει τη σερίνη 45, μια βασική θέση φωσφορυλίωσης που εμπλέκεται στην αποικοδόμηση της β-κατενίνης. Η μετάλλαξη CTNNB1 έχει ως αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση της β-Catenin, οδηγώντας στη συσσώρευσή της και τη συστατική ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt, που αποτελεί κινητήριο μοχλό του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της καρκινογένεσης. Αυτό καθιστά το Wilms11 ένα σημαντικό μοντέλο για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ της σηματοδότησης Wnt και της ανάπτυξης όγκων Wilms, ιδίως στις περιπτώσεις όπου το WT1 παραμένει άθικτο. Οι πρωτεομικές αναλύσεις του Wilms11 έχουν αποκαλύψει την ενεργοποίηση διαφόρων κινασών τυροσίνης υποδοχέα (RTKs), συμπεριλαμβανομένων των PDGFRβ και AXL, οι οποίες εμπλέκονται στην προώθηση της ανάπτυξης και της επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων. Κατώτερα μονοπάτια σηματοδότησης, όπως τα μονοπάτια MAPK και PI3K/AKT, ενεργοποιούνται επίσης στα κύτταρα Wilms11, συμβάλλοντας στην ογκογόνο συμπεριφορά τους. Η ικανότητα των κυττάρων Wilms11 να υφίστανται μεσεγχυματική διαφοροποίηση, ιδίως ραβδομυωματική διαφοροποίηση, αναδεικνύει τη δυναμική τους ως μοντέλο για τη μελέτη των μεσεγχυματικών συνιστωσών του όγκου Wilms. Συνολικά, τα κύτταρα Wilms11 χρησιμεύουν ως πολύτιμο εργαλείο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που οδηγούν στην καρκινογένεση του Wilms απουσία μεταλλάξεων του WT1 αλλά στο πλαίσιο της ενεργοποίησης του μονοπατιού Wnt.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Νεφρός
Disease	Όγκος Wilms
Applications	Μοντέλο καλλιέργειας κυττάρων in vitro. Βιοχημικές μελέτες

Χαρακτηριστικά

Age	22 μήνες
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος

Κύτταρα Wilms11 | 300420

Morphology	Ατρακτοειδές σχήμα
Cell type	Κύτταρα Wilms
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Wilms11 (αριθμός καταλόγου Cytion 300420)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SM

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Κατάσταση μετάλλαξης του WT1: ομοζυγωτικός WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . Κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: άγριος τύπος

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 Wilms11 | 300420

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 Wilms11 | 300420

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.