Product sheet

Κύτταρα Wilms8 | 300416

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά Wilms8 προήλθε από πρωτοπαθή όγκο Wilms σε παιδιατρικό ασθενή με γεννητική μετάλλαξη WT1. Αυτή η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από μια ομοζυγωτική μετάλλαξη nonsense στο γονίδιο WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), που οδηγεί σε πλήρη απώλεια της λειτουργίας του WT1. Το WT1 είναι ζωτικής σημασίας για τη φυσιολογική ανάπτυξη των νεφρών και η απενεργοποίησή του αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό σε ορισμένους επιθετικούς υποτύπους του όγκου Wilms, ιδίως σε εκείνους που παρουσιάζουν μεσεγχυματική διαφοροποίηση. Ο Wilms8, επομένως, παρέχει ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη των επιπτώσεων της απώλειας του WT1 στην καρκινογένεση, ιδίως στο πλαίσιο των όγκων Wilms που εμφανίζονται με έντονο στρωματικό στοιχείο. Εκτός από τη μετάλλαξη του WT1, τα κύτταρα Wilms8 φέρουν μετάλλαξη στο γονίδιο CTNNB1 (p.S45A), το οποίο κωδικοποιεί τη β-κατενίνη, έναν βασικό ρυθμιστή του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt. Η μετάλλαξη στη σερίνη 45 διαταράσσει τη φυσιολογική διαδικασία φωσφορυλίωσης που οδηγεί στην αποικοδόμηση της β-Catenin, προκαλώντας τη σταθεροποίηση και τη συσσώρευσή της στον πυρήνα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη συστατική ενεργοποίηση της σηματοδότησης Wnt, η οποία οδηγεί στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και συμβάλλει στις ογκογόνες ιδιότητες της κυτταρικής σειράς Wilms8. Η αλληλεπίδραση μεταξύ της απώλειας του WT1 και της ανώμαλης σηματοδότησης Wnt στο Wilms8 το καθιστά ένα κρίσιμο μοντέλο για την κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν αυτά τα μονοπάτια στη βιολογία των όγκων Wilms. Τα κύτταρα Wilms8 εμφανίζουν μεσεγχυματικό φαινότυπο, που χαρακτηρίζεται από την έκφραση της βιμεντίνης και την απουσία επιθηλιακών δεικτών όπως η κυτταροκερατίνη. Αυτό ευθυγραμμίζεται με τη στρωματική διαφοροποίηση που παρατηρείται στον αρχικό όγκο. Τα κύτταρα επιδεικνύουν περιορισμένη ικανότητα να υφίστανται περαιτέρω μεσεγχυματική διαφοροποίηση, όπως ο σχηματισμός μυϊκών κυττάρων υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Οι πρωτεομικές αναλύσεις του Wilms8 έχουν αποκαλύψει την ενεργοποίηση πολλαπλών κινασών τυροσίνης υποδοχέα (RTKs), συμπεριλαμβανομένων των PDGFRβ και AXL, οι οποίες εμπλέκονται σε βασικές διαδικασίες όπως η κυτταρική επιβίωση, η μετανάστευση και ο πολλαπλασιασμός. Η ενεργοποίηση των μεταγενέστερων σηματοδοτικών μονοπατιών, ιδίως των μονοπατιών MAPK και PI3K/AKT, συμβάλλει περαιτέρω στα επιθετικά χαρακτηριστικά των κυττάρων Wilms8. Συνολικά, η κυτταρική σειρά Wilms8 χρησιμεύει ως βασικό εργαλείο για τη διερεύνηση της μοριακής βάσης του όγκου Wilms που οφείλεται στην απώλεια του WT1 και στην ανώμαλη σηματοδότηση Wnt. Τα γενετικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της την καθιστούν μια ισχυρή πλατφόρμα για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ αυτών των κρίσιμων μονοπατιών και για τον εντοπισμό πιθανών θεραπευτικών στόχων σε όγκους Wilms με στρωματική συνιστώσα.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Νεφρός
Disease	Όγκος Wilms
Applications	Μοντέλο καλλιέργειας κυττάρων in vitro. Βιοχημικές μελέτες

Χαρακτηριστικά

Κύτταρα Wilms8 | 300416

Age	8 μήνες
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Ατρακτοειδές σχήμα
Cell type	Κύτταρα Wilms
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Wilms8 (αριθμός καταλόγου Cytion 300416)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SJ

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Κατάσταση μετάλλαξης WT1: ομοζυγωτική c.1168C>T, p.390x, LOH: , Κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: ετεροζυγωτική TCT>GCT, p.S45A

Χειρισμός

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

Κύτταρα Wilms8 | 300416

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 Wilms8 | 300416

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***: '02:01:01, '03:01:01 **B***: '15:01:01, '37:01:01 **C***: '04:01:01, '06:02:01 **DRB1***: '08:01:01G, '11:01:01 **DQA1***: '04:01:01, '05:05:01 **DQB1***: '03:01:01, '04:02:01 **DPB1***: '03:01:01, '06:01:01 **E**: '01:03:02