

Wilms10M Hücreleri | 300418**Genel bilgi****Description**

Wilms10M hücre hattı, Wilms tümörü (nefroblastom) olan bir hastanın metastatik akciğer nodülünden oluşturulmuştur. Birincil tümör muadili Wilms10T gibi, Wilms10M hücre hattı da WT1 geninin homozigot delesyonu ile karakterize edilir ve WT1 proteininin tamamen yokluğuna neden olur. WT1 normal böbrek gelişimi için gereklidir ve delesyonu özellikle metastatik ortamlarda daha agresif tümör davranışıyla ilişkilidir. Ayrıca, Wilms10M hücreleri, IGF2 genini içeren 11p15 kromozomal bölgesinde heterozigotluk kaybı (LOH) sergileyerek bu hücrelerin malign özelliklerine daha fazla katkıda bulunur.

Wilms10M hücreleri, WT1 bölgesinin spesifik delesyonu dışında önemli bir kromozomal yeniden düzenleme olmaksızın stabil bir karyotipi korur. Metastatik dokudan türetilen bu hücre hattı, Wilms tümöründe metastazi yönlendiren moleküler mekanizmaları incelemek için özellikle değerlidir. Hücreler, vimentin gibi belirteçleri ifade ederek mezankimal özellikler sergilerken, sitokeratin gibi epitelyal belirteçlerden yoksundur; bu da tümörün stromal bileşeninden kaynaklandıklarını gösterir.

Wilms10M üzerine yapılan araştırmalar, bu metastatik hücrelerde aktif olan sinyal yollarına odaklanmıştır. Proteomik analizler, IGF1R, PDGFRβ ve AXL dahil olmak üzere, hücrenin hayatta kalması, çoğalması ve metastatik potansiyelinin desteklenmesinde rol oynayan çeşitli reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) aktivasyonunu göstermiştir. Aşağı akış MAPK ve PI3K/AKT sinyal yolları da aktive olarak Wilms10M hücrelerinin invaziv ve metastatik fenotipinin sürdürülmesinde kilit rol oynar. Metastatik kökeni göz önüne alındığında, Wilms10M, Wilms tümör metastazının altında yatan moleküler olayları anlamak ve metastatik hastalığa karşı hedefe yönelik terapötik stratejiler geliştirmek için önemli bir modeldir.

Organism İnsan**Tissue** Böbrek**Disease** Wilms tümörü**Applications** In vitro hücre kültürü modeli. Biyokimyasal çalışmalar**Synonyms** Wilms10**Özellikler****Age** 2 yıl**Gender** Kadın**Ethnicity** Kafkas**Morphology** İğ şeklinde

Product sheet

Wilms10M Hücreleri | 300418

Cell type Wilms hücreleri

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation Wilms10M (Cytion katalog numarası 300418)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SL

Biyomoleküler Veriler

Mutational profile WT1 mutasyon durumu: del11p13 içinde homozigot del WT1. LOH: 11p13'te yok ancak 11p15'te UPD. CTNNB1 mutasyon durumu: homozigot del TCT, p.DS45, UPD 3p

Elleçleme

Culture Medium MSCGM kiti (Lonza'dan)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasks için 1-2 ml ve T75 flasks için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Wilms10M Hücreleri | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Wilms10M Hücreleri | 300418

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.