

Wilms3 Hücreleri | 300414

Genel bilgi

Description

Wilms3 hücre hattı, somatik WT1 mutasyonu ile karakterize edilen bir pediatrik hastadaki primer Wilms tümöründen oluşturulmuştur. Diğer birçok Wilms tümör hücre hattından farklı olarak Wilms3, WT1 geninde heterozigot bir çerçeve kayması mutasyonu (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87) barındırır ve kesilmiş bir WT1 proteininin üretilmesine yol açar. WT1 fonksiyonunun bu kısmi kaybı, stromal veya mezenkimal fenotip gösteren tümörlerin gelişimi ile ilişkilidir. Bununla birlikte, Wilms3'teki WT1 mutasyonu homozigot değildir, bu da çalışmasına karmaşıklık katar, çünkü tam WT1 kaybı olan hücre hatlarına kıyasla tümör biyolojisini farklı şekilde etkileyebilecek bazı WT1 işlevlerini korur.

Wilms3 ayrıca CTNNB1 geninde, özellikle Wnt sinyal yolunda kritik bir rol oynayan treonin 41'i (p.T41A) etkileyen bir mutasyon taşır. Bu mutasyon β -Catenin'i stabilize ederek parçalanmasını önler ve Wnt yolunun yapısal aktivasyonuna yol açar. Wnt sinyalinin sürekli aktivasyonu hücre çoğalmasını sağlar ve Wilms3'te tümörigeneze katkıda bulunur, bu da onu CTNNB1 mutasyonlarının kısmen işlevsel bir WT1 arka planı bağlamında etkisini incelemek için önemli bir model haline getirir.

Fenotipik olarak, Wilms3 hücreleri, orijinal tümörde gözlenen stromal özelliklerle tutarlı olarak, vimentin eksprese eden ve sitokeratin içermeyen mezenkimal benzeri bir morfoloji sergiler. Bu hücreler, belirli koşullar altında bir miktar mezenkimal farklılaşma geçirme kabiliyeti ile sınırlı farklılaşma potansiyeli göstermektedir. Wilms3'ün proteomik analizleri, PDGFR β ve AXL dahil olmak üzere hücre sağkalımını ve çoğalmasını destekleyen çeşitli reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) aktivasyonunu ortaya çıkarmıştır. Ek olarak, MAPK ve PI3K/AKT gibi aşağı akış sinyal yolları aktive olarak Wilms3 hücrelerinin kötü huylu özelliklerini güçlendirir.

Wilms3'ün benzersiz bir yönü, kısmi WT1 işlevselliğidir; bu da mutasyon tamamlanmadığında WT1 mutasyonlarının Wilms tümör biyolojisine nasıl katkıda bulunduğu dair farklı bir bakış açısı sağlar. Wilms3'te WT1 ve Wnt sinyali arasındaki etkileşim, bu yolların tümör gelişiminde oynadığı nüanslı rolleri incelemek için değerli bir fırsat sunmaktadır. Genel olarak Wilms3, kısmi WT1 kaybı ve konstitütif Wnt yolağı aktivasyonu varlığında Wilms tümörünün altında yatan moleküler mekanizmaları araştırmak için önemli bir model olarak hizmet etmektedir.

Organism İnsan

Tissue Böbrek

Disease Wilms tümörü

Applications In vitro hücre kültürü modeli. Biyokimyasal çalışmalar

Özellikler

Age 11-12 ay

Gender Erkek

Ethnicity Kafkas

Wilms3 Hücreleri | 300414

Morphology İğ şeklinde

Cell type Wilms hücreleri

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation Wilms3 (Cytion katalog numarası 300414)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SF

Biyomoleküler Veriler

Mutational profile WT1 mutasyon durumu: homozigot c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutasyon durumu: vahşi tip

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 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar 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.

Wilms3 Hücreleri | 300414**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 flakonu 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 flakonu 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.

Wilms3 Hücreleri | 300414

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.

HLA alelleri

A*: '03:01:01
B*: '35:01:01, '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:03:01, '11:04:01
DQA1*: '03:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '03:02:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:03:02, '01:06:01