

imWilms1 Hücreler | 300412**Genel bilgi****Description**

Wilms1 hücre hattı orijinal olarak, Wilms tümörünün (nefroblastom) karakteristik bir sunumu olan büyük bilateral böbrek tümörleri tanısı konan bir hastadan elde edilen bir primer Wilms tümöründen türetilmiştir. Bu hücre hattı, WT1 geninde (c.149 C>A, p.S50X) homozigot saçma bir mutasyon barındırır ve kesilmiş, işlevsel olmayan bir WT1 proteininin üretilmesine yol açar. WT1 böbrek gelişiminde kritik bir genidir ve mutasyonu, özellikle stromal farklılaşma gösteren tümörlerde Wilms tümörünün patogenezi ile yakından ilişkilidir. Wilms1 hücreleri önemli kromozomal anormallikler olmaksızın stabil bir karyotip sergiler ve sitokeratin gibi epitelyal belirteçlerden yoksunken vimentin eksprese eden mezenkimal bir fenotip ile karakterize edilirler. Bu hat, belirli koşullar altında kas benzeri hücrelere farklılaşma potansiyeli de dahil olmak üzere mezenkimal farklılaşma için sınırlı ancak önemli bir kapasite gösterir ve bu da onu WT1 mutasyonlarının moleküler sonuçlarını incelemek için çok önemli bir model haline getirir.

Birincil Wilms1 hücrelerinin sınırlı ömrünün üstesinden gelmek için, imWilms1 hücre hattı, orijinal tümör hücrelerine üçlü mutant SV40 büyük T antijeni (U19dl89-97tsA58) eklenerek ölümsüzleştirilmelerini kolaylaştırarak oluşturulmuştur. Bu modifikasyon, imWilms1 hücrelerinin kromozomal stabiliteyi korurken süresiz olarak çoğalmasını sağlar ve böylece uzun vadeli çalışmalar için güvenilir bir model sunar. Ölümsüzleştirilmiş imWilms1 hücreleri aynı WT1 mutasyonunu sergilemeye devam etmekte ve ana Wilms1 hattının mezenkimal özelliklerini korumaktadır.

Genetik ve fenotipik özelliklerine ek olarak, imWilms1 hücre hattı sinyal yolu aktivitesi açısından kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Proteomik çalışmalar, EGFR, PDGFR β ve AXL dahil olmak üzere çeşitli reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) fosforilasyonunu ve aktivasyonunu ve MAPK sinyal yollarının aşağı akış aktivasyonunu ortaya çıkarmıştır. Bu yolların imWilms1 hücrelerindeki tutarlı aktivasyonu, Wilms tümöründe hedefe yönelik terapötik stratejilerin araştırılması için uygunluklarının altını çizmektedir. Genel olarak, imWilms1, Wilms tümör gelişimi ve ilerlemesinin altında yatan moleküler mekanizmaları, özellikle de WT1 mutasyonları ve anormal sinyal yolları tarafından yönlendirilenleri araştırmak için sağlam ve uzun vadeli bir model görevi görmektedir.

Organism İnsan**Tissue** Böbrek**Disease** Wilms Tümörü**Synonyms** IM-WT-1**Özellikler****Age** 10 ay**Gender** Kadın**Ethnicity** Kafkas

imWilms1 Hücreler | 300412**Morphology** İğ şeklinde**Cell type** Wilms hücreleri**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** imWilms1 (Cytion katalog numarası 300412)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SN**GMO Status** GMO-S1: Bu imWilms1 insan Wilms tümör hattı, nefroblastom araştırmaları için koşullu immortalizasyon sağlayan üçlü mutant SV40 T-antijen kaseti içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Mutational profile** WT1 mutasyon durumu: homozigot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutasyon durumu: heterozigot TCT>TT, p.S45F**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 süspans etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspans edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 1 ila 2 kez

imWilms1 Hücreler | 300412**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.

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 peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse 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

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

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.

imWilms1 Hücreler | 300412

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.

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, '24:02:01
B*: '35:03:01, '38:01:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '07:01:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:03:01, '01:03:02