

Wilms6 Hücreleri | 300415

Genel bilgi

Description

Wilms6 hücre hattı, germline WT1 mutasyonu olan bir pediatrik hastanın primer Wilms tümöründen oluşturulmuştur. Bu hücre hattı, WT1 geninde (c.1168 C>T, p.R390X) kesilmiş ve işlevsel olmayan bir WT1 proteini ile sonuçlanan homozigot bir anlamsız mutasyon ile tanımlanır. WT1, böbrek gelişiminin kritik bir düzenleyicisidir ve kaybı, özellikle mezenkimal farklılaşma gösteren vakalarda Wilms tümörü ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Wilms6 hücre hattı, özellikle hem epitelyal hem de mezenkimal özellikler gösteren tümörler bağlamında, tam WT1 kaybının tümörjenik etkilerini incelemek için önemli bir modeldir.

Wilms6 hücreleri ayrıca CTNNB1 geninde, özellikle β -Katenin degradasyonunu düzenleyen fosforilasyon için kilit bir bölge olan serin 45'i (p.S45F) etkileyen bir mutasyon taşır. Bu mutasyon, β -Catenin'in stabilizasyonuna ve nükleer birikimine yol açarak Wnt sinyal yolunun konstitütif aktivasyonuna neden olur. Wnt sinyalizasyonunun anormal aktivasyonu, Wilms tümörlerinde hücre çoğalması ve tümörigenezin bilinen bir itici gücüdür ve Wilms6'yı WT1 mutasyonlu tümörlerde Wnt yolağı düzensizliğinin rolünü araştırmak için değerli bir araç haline getirir.

Fenotipik olarak Wilms6 hücreleri, orijinal tümörün stromal yapısını yansıtan güçlü vimentin ekspresyonu ve sitokeratin gibi epitelyal belirteçlerin yokluğu ile mezenkimal bir morfoloji sergiler. Bu hücrelerin, bazı Wilms tümörlerinde gözlenen mezenkimal farklılaşmayı yansıtan belirli koşullar altında kas benzeri hücrelere farklılaşma yeteneği de dahil olmak üzere sınırlı ancak dikkate değer bir farklılaşma potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir. Wilms6 ile ilgili proteomik çalışmalar, PDGFR β ve AXL dahil olmak üzere, hücre sağkalımını, çoğalmasını ve göçünü desteklemede rol oynayan çoklu reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) aktivasyonunu tanımlamıştır. MAPK ve PI3K/AKT gibi sinyal yollarının aşağı yönlü aktivasyonu, bu hücre hattının agresif doğasının altını daha da çizmektedir.

Genel olarak, Wilms6 hücre hattı, özellikle Wnt sinyal aktivasyonu ile birlikte tam WT1 kaybı durumlarında, Wilms tümör gelişiminin altında yatan moleküler mekanizmaları araştırmak için çok önemli bir model olarak hizmet etmektedir. Genetik ve fenotipik özellikleri, WT1 eksikliği ve anormal sinyal yolları arasındaki etkileşimi incelemek için mükemmel bir platform oluşturmakta ve bu agresif tümör tipi için potansiyel terapötik hedefler hakkında içgörü sağlamaktadır.

Organism

İnsan

Tissue

Böbrek

Disease

Wilms tümörü

Applications

In vitro hücre kültürü modeli. Biyokimyasal çalışmalar

Özellikler

Age

15 ay

Gender

Erkek

Wilms6 Hücreleri | 300415**Ethnicity** Kafkas**Morphology** İğ şeklinde**Cell type** Wilms hücreleri**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** Wilms6 (Cytion katalog numarası 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Biyomoleküler Veriler****Mutational profile** WT1 mutasyon durumu: homozigot c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutasyon durumu: homozigot del TCT, p.DS45**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.

Wilms6 Hücreleri | 300415

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.

Wilms6 Hücreleri | 300415

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*: '02:05:01, '29:01:01

B*: '07:05:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '15:05:02

DRB1*: '07:01:01, '10:01:01

DQA1*: '01:05:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:01:01

DPB1*: '04:02:01, '17:01:01

E: '01:01:01