

Wilms2 Hücreleri | 300413

Genel bilgi

Description

Wilms2 hücre hattı, germline WT1 mutasyonu olan bir pediatrik hastanın primer Wilms tümöründen türetilmiştir. Bu hücre hattı, WT1 geninde (c.1084 C>T, p.R362X) kesilmiş, işlevsel olmayan bir WT1 proteininin üretilmesiyle sonuçlanan homozigot bir saçma mutasyon ile karakterize edilir. Böbrek gelişimi için gerekli bir gen olan fonksiyonel WT1'in kaybı, Wilms tümörünün belirli alt tiplerinin, özellikle de mezenkimal veya stromal farklılaşma ile ilişkili olanların ayırt edici özelliğidir. Wilms2 hücre hattı, özellikle diğer kritik genetik özellikleri koruyan Wilms tümörleri bağlamında, WT1 kaybının neden olduğu tümörjenik süreçleri incelemek için önemli bir modeldir.

Wilms2 hücreleri ayrıca Wnt sinyal yolunun önemli bir bileşeni olan β -Katenin'i kodlayan CTNNB1 geninde mutasyonlar taşır. Özellikle serin 45'i etkileyen bu mutasyonlar, β -Catenin'in stabilizasyonuna ve birikimine yol açarak Wnt yolunun yapısal aktivasyonuna neden olur. Bu aktivasyon, Wilms tümöründe hücre proliferasyonu ve tümörigenezin bilinen bir itici gücüdür ve Wilms2'yi, anormal Wnt sinyalinin WT1 mutasyonlu tümörlerin gelişimine ve ilerlemesine nasıl katkıda bulunduğunu anlamak için değerli bir model haline getirir.

Fenotip açısından, Wilms2 hücreleri mezenkimal benzeri bir morfoloji sergiler, vimentin eksprese eder ve sitokeratin gibi epitelyal belirteçlerden yoksundur. Bu, tümörün stromal özellikleriyle uyumludur ve WT1'in böbrek gelişimi sırasında mezenkimal-epitelyal geçişleri düzenlemedeki rolünün altını çizmektedir. Wilms2'nin proteomik analizleri, tümör hücresi sağkalımını ve çoğalmasını desteklediği bilinen PDGFR β ve AXL dahil olmak üzere çeşitli reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) aktivasyonunu tanımlamıştır. Ayrıca, MAPK ve PI3K/AKT gibi aşağı akış yolları da aktive olarak Wilms2 hücrelerinin kötü huylu özelliklerine daha fazla katkıda bulunur.

Genel olarak, Wilms2 hücre hattı, WT1 kaybı ve anormal Wnt sinyali tarafından yönlendirilen Wilms tümörünün moleküler mekanizmalarını araştırmak için önemli bir araç görevi görmektedir. Genetik ve fenotipik özellikleri, potansiyel terapötik hedeflerin araştırılması ve mezenkimal bileşenli Wilms tümörlerinin patolojisinde kilit sinyal yollarının rolünün anlaşılması için sağlam bir platform sağlar.

Organism İnsan

Tissue Böbrek

Disease Wilms tümörü

Applications In vitro hücre kültürü modeli. Biyokimyasal çalışmalar

Özellikler

Age 1 yıl

Gender Erkek

Ethnicity Kafkas

Morphology İğ şeklinde

Product sheet

Wilms2 Hücreleri | 300413

Cell type Wilms hücreleri

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation Wilms2 (Cytion katalog numarası 300413)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SE

Biyomoleküler Veriler

Mutational profile WT1 mutasyon durumu: homozigot c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutasyon durumu: heterozigot del TCT>TAT, p.S45Y

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.

Wilms2 Hücreleri | 300413**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.

Wilms2 Hücreleri | 300413

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*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '15:01:01, '57:01:01
C*: '03:03:01, '07:01:01
DRB1*: '04:01:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '03:03:02
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01, '01:03:02