

Wilms11 Hücreleri | 300420

Genel bilgi

Description

Wilms11 hücre hattı, pediatrik bir hastadaki birincil Wilms tümöründen (nefroblastom) türetilmiştir. Diğer birçok Wilms tümör hücre hattının aksine, Wilms11 vahşi tip WT1'in varlığı ile karakterize edilir, yani WT1 geninde mutasyonlar barındırmaz, bu da tipik olarak daha agresif veya stromal fenotipler sergileyen Wilms tümörleri ile ilişkilidir. Bununla birlikte, Wilms11 tümörü, tümör içindeki mezenkimal elementlerin göstergesi olan geniş rabdomyomatöz farklılaşma alanları ile önemli stromal farklılaşma sergilemiştir. Yabani tip WT1'in varlığı, tümörün stromal farklılaşması ile birleştiğinde, WT1 mutasyonlarının bulunmadığı durumlarda Wilms tümör biyolojisini anlamak için benzersiz bir model sağlar.

Wilms11'in genetik çalışmaları, bu hücre hattının Wnt sinyal yolunda çok önemli bir rol oynayan β -Catenin'i kodlayan gen olan CTNNB1'de tümöre özgü bir mutasyon taşıdığını göstermiştir. Wilms11'de bu mutasyon, β -Catenin degradasyonunda rol oynayan önemli bir fosforilasyon bölgesi olan serin 45'i etkiler. CTNNB1 mutasyonu, β -Catenin'in stabilizasyonuna yol açarak birikmesine ve hücre çoğalması ve tümörigenezin itici gücü olan Wnt sinyal yolunun yapısal aktivasyonuna neden olur. Bu durum Wilms11'i, özellikle WT1'in sağlam kaldığı durumlarda, Wnt sinyali ve Wilms tümör gelişimi arasındaki etkileşimi incelemek için önemli bir model haline getirmektedir.

Wilms11'in proteomik analizleri, PDGFR β ve AXL dahil olmak üzere, tümör hücresi büyümesi ve hayatta kalmasında rol oynayan çeşitli reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) aktivasyonunu ortaya çıkarmıştır. MAPK ve PI3K/AKT yolları gibi aşağı akış sinyal yolları da Wilms11 hücrelerinde aktive olarak tümörigenez davranışlarına katkıda bulunur. Wilms11 hücrelerinin mezenkimal farklılaşmaya, özellikle de rabdomyomatöz farklılaşmaya uğrama yeteneği, Wilms tümörünün mezenkimal bileşenlerini incelemek için bir model olarak potansiyellerini vurgulamaktadır. Genel olarak, Wilms11, WT1 mutasyonlarının yokluğunda ancak Wnt yolağı aktivasyonu bağlamında Wilms tümörigenezini yönlendiren moleküler mekanizmaları araştırmak için değerli bir araç olarak hizmet eder.

Organism İnsan

Tissue Böbrek

Disease Wilms tümörü

Applications In vitro hücre kültürü modeli. Biyokimyasal çalışmalar

Özellikler

Age 22 ay

Gender Erkek

Ethnicity Kafkas

Morphology İğ şeklinde

Wilms11 Hücreleri | 300420**Cell type** Wilms hücreleri**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** Wilms11 (Cytion katalog numarası 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM**Biyomoleküler Veriler****Mutational profile** WT1 mutasyon durumu: homozigot WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . 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.

Wilms11 Hücreleri | 300420**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.

Wilms11 Hücresi | 300420

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.