Wilms6

300415

GENEL BILGILER

Açıklama

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 tümörijenik 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 sinyalinin anormal aktivasyonu, Wilms tümörlerinde hücre proliferasyonu ve tümörigenezin bilinen bir itici gücüdür ve Wilms6'yı WT1 mutasyonlu tümörlerde Wnt yolu 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, PDGFRβ 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 yolakları arasındaki etkileşimi incelemek için mükemmel bir platform oluşturmakta ve bu agresif tümör tipi için potansiyel terapötik hedefler hakkında içgörü sağlamaktadır.

Doku	Böbrek
Hastalık	Wilms tümörü

Uygulamalar

In vitro hücre kültürü modeli. Biyokimyasal çalışmalar

SINIFLANDIRMA

Canlı	İnsan
Cinsiyet	Erkek
Büyüme özellikleri	Bağlı
Biyogüvenlik seviyesi	1

ÖZELLIKLER

Morfoloji	İğ şeklinde
Hücre türü	Wilms hücreleri

TANIMLAYICILAR

Kaynak gösterimi

Wilms6 (Cytion katalog numarası 300415)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

NCBI Vergi Kimlik Numarası	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SI

İFADE VE DUYARLILIK

Mutasyon profili

WT1 mutasyon durumu: homozigot c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutasyon durumu: homozigot del TCT, p.DS45

İŞLEME VE YETIŞTIRME

Besiyeri

MSCGM kiti (Lonza'dan)

Kuluçka ortamı	37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer.
Ayrıştırma reaktifi	Accutase

Alt kültür oluşturma

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 süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Çözme ve kültürleme

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

Kısırlık

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.

Dondurma ortamı	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.

Saklama koşulları

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.

Nakliye koşulları

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.

BAĞIŞÇI

Bağışçının yaşı	15 ay
Etnik köken	Kafkas

YASAL VE GÜVENLIK

Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

Malzeme Transfer Anlaşması gereklidir	Yes