Wilms8

300416

GENEL BILGILER

Açıklama

Wilms8 hücre hattı, germline WT1 mutasyonu olan bir pediatrik hastadaki primer Wilms tümöründen türetilmiştir. Bu hücre hattı, WT1 geninde homozigot saçma mutasyon (c.1168 C>T, p.R390X) ile karakterize edilir ve WT1 fonksiyonunun tamamen kaybına yol açar. WT1 normal böbrek gelişimi için çok önemlidir ve inaktivasyonu Wilms tümörünün bazı agresif alt tiplerinde, özellikle de mezenkimal farklılaşma gösterenlerde ortak bir özelliktir. Bu nedenle Wilms8, özellikle belirgin bir stromal bileşenle ortaya çıkan Wilms tümörleri bağlamında, WT1 kaybının tümörigenez üzerindeki etkilerini incelemek için değerli bir model sağlar.
WT1 mutasyonuna ek olarak, Wilms8 hücreleri, Wnt sinyal yolunun önemli bir düzenleyicisi olan β-Katenin'i kodlayan CTNNB1 geninde (p.S45A) bir mutasyon barındırır. Serin 45'teki mutasyon, β-Catenin degradasyonuna yol açan normal fosforilasyon sürecini bozarak stabilizasyonuna ve çekirdekte birikmesine neden olur. Bu, hücre çoğalmasını sağlayan ve Wilms8 hücre hattının onkojenik özelliklerine katkıda bulunan Wnt sinyalinin yapısal aktivasyonu ile sonuçlanır. Wilms8'de WT1 kaybı ve anormal Wnt sinyali arasındaki etkileşim, Wilms tümör biyolojisinde bu yolakların altında yatan moleküler mekanizmaları anlamak için çok önemli bir model haline getirmektedir.
Wilms8 hücreleri, vimentin ekspresyonu ve sitokeratin gibi epitelyal belirteçlerin yokluğu ile karakterize mezenkimal bir fenotip sergilemektedir. Bu, orijinal tümörde gözlenen stromal farklılaşma ile uyumludur. Hücreler, belirli koşullar altında kas benzeri hücreler oluşturmak gibi daha fazla mezenkimal farklılaşma geçirme konusunda sınırlı bir yetenek gösterir. Wilms8'in proteomik analizleri, PDGFRβ ve AXL dahil olmak üzere, hücre sağkalımı, göçü ve çoğalması gibi kilit süreçlerde rol oynayan çoklu reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) aktivasyonunu ortaya çıkarmıştır. Özellikle MAPK ve PI3K/AKT yolakları olmak üzere aşağı akış sinyal yolaklarının aktivasyonu, Wilms8 hücrelerinin agresif özelliklerine daha fazla katkıda bulunur.
Genel olarak, Wilms8 hücre hattı, WT1 kaybı ve anormal Wnt sinyali tarafından yönlendirilen Wilms tümörünün moleküler temelini araştırmak için önemli bir araç görevi görmektedir. Genetik ve fenotipik özellikleri onu, bu kritik yolaklar arasındaki etkileşimi incelemek ve stromal bileşenli Wilms tümörlerinde potansiyel terapötik hedefleri belirlemek için sağlam bir platform haline getirmektedir.

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

Wilms8 (Cytion katalog numarası 300416)

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_A5SJ

İFADE VE DUYARLILIK

Mutasyon profili

WT1 mutasyon durumu: homozigot c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1 mutasyon durumu: heterozigot TCT>GCT, p.S45A

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	8 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