Wilms3

300414

OBECNÉ INFORMACE

Popis

Buněčná linie Wilms3 byla vytvořena z primárního Wilmsova nádoru u dětského pacienta, který se vyznačoval somatickou mutací WT1. Na rozdíl od mnoha jiných buněčných linií Wilmsova nádoru je Wilms3 nositelem heterozygotní frameshift mutace v genu WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), která vede k produkci zkráceného proteinu WT1. Tato částečná ztráta funkce WT1 je spojena s rozvojem nádorů, které vykazují stromální nebo mezenchymální fenotyp. Mutace WT1 u Wilms3 však není homozygotní, což přispívá ke složitosti jejího studia, protože si zachovává určitou funkci WT1, která může ovlivňovat biologii nádoru odlišně ve srovnání s buněčnými liniemi s úplnou ztrátou WT1.
Wilms3 nese také mutaci v genu CTNNB1, konkrétně postihující threonin 41 (p.T41A), který hraje kritickou roli v signální dráze Wnt. Tato mutace stabilizuje β-katenin, čímž brání jeho degradaci a vede ke konstitutivní aktivaci dráhy Wnt. Přetrvávající aktivace signalizace Wnt pohání proliferaci buněk a přispívá k tumorigenezi u Wilms3, což z něj činí klíčový model pro studium dopadu mutací CTNNB1 v kontextu částečně funkčního pozadí WT1.
Fenotypicky vykazují buňky Wilms3 morfologii podobnou mezenchymálnímu typu, exprimují vimentin a postrádají cytokeratin, což odpovídá stromálním charakteristikám pozorovaným v původním nádoru. Tyto buňky vykazují omezený diferenciační potenciál se schopností určité mezenchymální diferenciace za specifických podmínek. Proteomické analýzy Wilms3 odhalily aktivaci několika receptorových tyrozinkináz (RTK), včetně PDGFRβ a AXL, které podporují přežití a proliferaci buněk. Kromě toho jsou aktivovány navazující signální dráhy, jako jsou MAPK a PI3K/AKT, což posiluje maligní vlastnosti buněk Wilms3.
Jedním z jedinečných aspektů Wilms3 je částečná funkčnost WT1, což poskytuje odlišný pohled na to, jak mutace WT1 přispívají k biologii Wilmsova nádoru, pokud mutace není úplná. Vzájemné působení signalizace WT1 a Wnt u Wilms3 nabízí cennou příležitost ke studiu diferencovaných rolí, které tyto dráhy hrají ve vývoji nádoru. Celkově Wilms3 slouží jako důležitý model pro zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem Wilmsova nádoru v přítomnosti částečné ztráty WT1 a konstitutivní aktivace dráhy Wnt.

Tkáň	Ledviny
Nemoc	Wilmsův nádor

Aplikace

Model buněčné kultury in vitro. Biochemické studie

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Sex	Muž
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Úroveň biologické bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKA

Morfologie	Vřetenovitý tvar
Typ buňky	Wilmsovy buňky

IDENTIFIKÁTORY

Citace

Wilms3 (katalogové číslo Cytion 300414)

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

Daňové identifikační číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SF

EXPRESE A NÁCHYLNOST

Mutační profil

Stav mutace WT1: homozygotní c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, stav mutace CTNNB1: divoký typ

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

Souprava MSCGM (od společnosti Lonza)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.
Disociační činidlo	Accutase

Subkultivace

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Rozmrazování a kultivace

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DÁRCE

Věk dárce	11-12 měsíců
Etnická příslušnost	Kavkazský

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Je nutná smlouva o převodu materiálu	Yes