Wilms3

300414

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

Wilms3-cellelinjen blev etableret fra en primær Wilms-tumor hos en pædiatrisk patient, der var karakteriseret ved en somatisk WT1-mutation. I modsætning til mange andre Wilms-tumorcellelinjer har Wilms3 en heterozygot frameshift-mutation i WT1-genet (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), der fører til produktion af et afkortet WT1-protein. Dette delvise tab af WT1-funktion er forbundet med udviklingen af tumorer, der viser en stromal eller mesenkymal fænotype. WT1-mutationen i Wilms3 er dog ikke homozygot, hvilket gør undersøgelsen mere kompleks, da den bevarer en vis WT1-funktion, som kan påvirke tumorbiologien på en anden måde end cellelinjer med komplet WT1-tab. Wilms3 bærer også en mutation i CTNNB1-genet, der specifikt påvirker treonin 41 (p.T41A), som spiller en kritisk rolle i Wnt-signalvejen. Denne mutation stabiliserer β-Catenin, forhindrer dets nedbrydning og fører til konstitutiv aktivering af Wnt-signalvejen. Den vedvarende aktivering af Wnt-signalering driver celleproliferation og bidrager til tumorigenese i Wilms3, hvilket gør den til en vigtig model til undersøgelse af effekten af CTNNB1-mutationer i sammenhæng med en delvist funktionel WT1-baggrund.
Fænotypisk udviser Wilms3-celler en mesenkymlignende morfologi, der udtrykker vimentin og mangler cytokeratin, hvilket stemmer overens med de stromale egenskaber, der er observeret i den oprindelige tumor. Disse celler udviser et begrænset differentieringspotentiale med evnen til at undergå en vis mesenkymal differentiering under specifikke forhold. Proteomiske analyser af Wilms3 har afsløret aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er), herunder PDGFRβ og AXL, som understøtter celleoverlevelse og -spredning. Derudover aktiveres downstream-signalveje som MAPK og PI3K/AKT, hvilket forstærker Wilms3-cellernes ondartede egenskaber.
Et unikt aspekt ved Wilms3 er dens delvise WT1-funktionalitet, som giver et særskilt perspektiv på, hvordan WT1-mutationer bidrager til Wilms-tumorbiologi, når mutationen ikke er komplet. Samspillet mellem WT1 og Wnt-signalering i Wilms3 giver en værdifuld mulighed for at studere de nuancerede roller, som disse veje spiller i tumorudvikling. Samlet set fungerer Wilms3 som en vigtig model til undersøgelse af de molekylære mekanismer, der ligger til grund for Wilms-tumor i nærvær af delvist WT1-tab og konstitutiv Wnt-signalvejsaktivering.

Væv	Nyre
Sygdom	Wilms-tumor

Anvendelser

In vitro-cellekulturmodel. Biokemiske undersøgelser

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Mand
Vækstegenskaber	Tilhænger
Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Spindelformet
Celletype	Wilms-celler

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

Wilms3 (Cytion katalognummer 300414)

NCBI-skattenummer	9606

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

Cellosaurus	CVCL_A5SF

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Mutationsprofil

WT1-mutationsstatus: homozygot c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: vildtype

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

MSCGM-kit (fra Lonza)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.
Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	11-12 måneder
Etnisk tilhørsforhold	Kaukasisk

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytіon står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der kræves en aftale om overførsel af materiale	Yes