Wilms3

300414

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

Wilms3 rakuliin loodi pediaatrilise patsiendi primaarsest Wilmsi kasvajast, mida iseloomustab somaatiline WT1-mutatsioon. Erinevalt paljudest teistest Wilmsi tuumori rakuliinidest on Wilms3-l heterosügootne frameshift-mutatsioon WT1 geenis (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), mis põhjustab kärbitud WT1 valgu tootmist. See WT1 funktsiooni osaline kadumine on seotud stromaalse või mesenhüümse fenotüübiga kasvajate tekkega. Wilms3 puhul ei ole WT1 mutatsioon siiski homosügootne, mis muudab selle uurimise keerulisemaks, kuna see säilitab osa WT1 funktsioonist, mis võib mõjutada kasvaja bioloogiat erinevalt võrreldes rakuliinidega, kus WT1 on täielikult kadunud. Wilms3 kannab ka mutatsiooni CTNNB1 geenis, mis mõjutab konkreetselt 41. treoniini (p.T41A), mis mängib kriitilist rolli Wnt-signaaliteedis. See mutatsioon stabiliseerib β-kateniini, takistades selle lagunemist ja põhjustades Wnt-tee konstitutiivset aktiveerimist. Wnt-signalisatsiooni püsiv aktiveerimine põhjustab rakkude proliferatsiooni ja aitab kaasa Wilms3 kasvajate tekkimisele, mistõttu on see peamine mudel CTNNB1-mutatsioonide mõju uurimiseks osaliselt toimiva WT1-fooni kontekstis.
Fenotüübiliselt on Wilms3 rakkudel mesenhüümilaadne morfoloogia, mis ekspresseerib vimentiini ja millel puudub tsütokeratiin, mis on kooskõlas algses kasvajas täheldatud stroomi omadustega. Nende rakkude diferentseerumispotentsiaal on piiratud, kusjuures nad suudavad teatud tingimustel diferentseeruda mesenhüümseks. Wilms3 proteoomilised analüüsid on näidanud mitmete retseptori türosiini kinaaside (RTK), sealhulgas PDGFRβ ja AXL aktiveerimist, mis toetavad rakkude ellujäämist ja proliferatsiooni. Lisaks on aktiveeritud sellised allavoolu signaalirajad nagu MAPK ja PI3K/AKT, mis tugevdavad Wilms3 rakkude pahaloomulisi omadusi.
Üks ainulaadne aspekt Wilms3 puhul on selle osaline WT1 funktsionaalsus, mis annab erilise perspektiivi, kuidas WT1 mutatsioonid aitavad kaasa Wilmsi kasvaja bioloogiale, kui mutatsioon ei ole täielik. WT1 ja Wnt-signalisatsiooni koostoime Wilms3-s annab väärtusliku võimaluse uurida nende radade nüansirikkaid rolle kasvaja arengus. Üldiselt on Wilms3 oluline mudel Wilmsi kasvaja aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks osalise WT1 kao ja konstitutiivse Wnt-tee aktiveerimise korral.

Kude	Neerud
Haigus	Wilmsi kasvaja

Rakendused

In vitro rakukultuuri mudel. Biokeemilised uuringud

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Mees
Kasvuvõime	Järgija
Bioloogilise ohutuse tase	1

OMADUSED

Morfoloogia	Spindlikujuline
Rakutüüp	Wilmsi rakud

TUNNUSED

Viide

Wilms3 (Cytioni kataloginumber 300414)

NCBI maksukood	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

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Mutatsiooniprofiil

WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatsiooni staatus: metsikut tüüpi

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

MSCGM komplekt (Lonza)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.
Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Sulatamine ja kasvatamine

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.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	11-12 kuud
Etniline kuuluvus	Kaukaasia

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""'x-default"">Tagatise avaldusest

Vajalik on materjalide üleandmise leping	Yes