Wilms3

300414

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

Wilms3-solulinja perustettiin pediatrisen potilaan primaarisesta Wilmsin kasvaimesta, jolle oli ominaista somaattinen WT1-mutaatio. Toisin kuin monissa muissa Wilmsin kasvainsolulinjoissa, Wilms3:ssa on heterotsygoottinen frameshift-mutaatio WT1-geenissä (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), joka johtaa typistetyn WT1-proteiinin tuotantoon. Tämä WT1:n osittainen toiminnan menetys liittyy sellaisten kasvainten kehittymiseen, joilla on stroomaalinen tai mesenkymaalinen fenotyyppi. Wilms3:n WT1-mutaatio ei kuitenkaan ole homotsygoottinen, mikä tekee sen tutkimisesta monimutkaisempaa, sillä siinä säilyy jonkin verran WT1:n toimintaa, joka voi vaikuttaa kasvaimen biologiaan eri tavalla verrattuna solulinjoihin, joissa WT1 menetetään kokonaan.
Wilms3:ssa on myös mutaatio CTNNB1-geenissä, joka vaikuttaa erityisesti treoniini 41:ään (p.T41A), jolla on kriittinen rooli Wnt-signalointireitillä. Tämä mutaatio stabiloi β-kateniinia, estää sen hajoamisen ja johtaa Wnt-reitin konstitutiiviseen aktivoitumiseen. Wnt-signalisaation jatkuva aktivoituminen edistää solujen lisääntymistä ja kasvainten syntyä Wilms3-taudissa, mikä tekee siitä keskeisen mallin CTNNB1-mutaatioiden vaikutusten tutkimiseen osittain toimivan WT1-taustan yhteydessä.
Fenotyyppisesti Wilms3-soluilla on mesenkymaalinen morfologia, joka ilmentää vimentiiniä ja josta puuttuu sytokeratiini, mikä vastaa alkuperäisessä kasvaimessa havaittuja stroomaattisia ominaisuuksia. Näillä soluilla on rajoitettu erilaistumispotentiaali, ja ne pystyvät tietyissä olosuhteissa erilaistumaan jonkin verran mesenkymaalisesti. Wilms3:n proteomianalyysit ovat paljastaneet useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten PDGFRβ:n ja AXL:n, aktivoituneen, mikä tukee solujen selviytymistä ja lisääntymistä. Lisäksi MAPK:n ja PI3K/AKT:n kaltaiset signaalireitit aktivoituvat, mikä vahvistaa Wilms3-solujen pahanlaatuisia ominaisuuksia.
Yksi Wilms3:n ainutlaatuinen piirre on sen osittainen WT1-toiminnallisuus, mikä tarjoaa erillisen näkökulman siihen, miten WT1-mutaatiot vaikuttavat Wilms-kasvaimen biologiaan, kun mutaatio ei ole täydellinen. WT1:n ja Wnt-signalisaation välinen vuorovaikutus Wilms3:ssa tarjoaa arvokkaan mahdollisuuden tutkia näiden reittien vivahteikkaita rooleja kasvainten kehityksessä. Kaiken kaikkiaan Wilms3 toimii tärkeänä mallina Wilmsin kasvaimen taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen osittaisen WT1-menetyksen ja konstitutiivisen Wnt-reitin aktivoitumisen yhteydessä.

Kudos	Munuaiset
Sairaus	Wilmsin kasvain

Sovellukset

In vitro -soluviljelymalli. Biokemialliset tutkimukset

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Mies
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Karanmuotoinen
Solutyyppi	Wilmsin solut

TUNNISTEET

Lähdeviite

Wilms3 (Cytionin luettelonumero 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

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SF

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Mutaatioprofiili

WT1-mutaation status: homotsygoottinen c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutaation status: villiintynyt

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

MSCGM-pakkaus (Lonza)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.
Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

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

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	11-12 kuukautta
Etnisyys	Kaukasialainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"""">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	Yes