Wilms3

300414

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

A Wilms3 sejtvonalat egy gyermekbeteg primer Wilms-tumorából hozták létre, amelyet szomatikus WT1 mutáció jellemez. Sok más Wilms-tumor sejtvonaltól eltérően a Wilms3 heterozigóta frameshift mutációt tartalmaz a WT1 génben (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), ami egy csonka WT1 fehérje termelődéséhez vezet. A WT1 funkciójának ez a részleges elvesztése olyan tumorok kialakulásával jár, amelyek stromális vagy mesenchymális fenotípust mutatnak. A Wilms3-ban a WT1 mutáció azonban nem homozigóta, ami bonyolultabbá teszi a vizsgálatát, mivel megtartja a WT1 bizonyos funkcióját, amely a teljes WT1-vesztéssel rendelkező sejtvonalakhoz képest másképp befolyásolhatja a tumorbiológiát.
A Wilms3 a CTNNB1 génben is hordoz egy mutációt, amely kifejezetten a 41-es treonin (p.T41A), a Wnt jelátviteli útvonalban játszott kritikus szerepet érinti. Ez a mutáció stabilizálja a β-katenint, megakadályozva annak degradációját, és a Wnt-útvonal konstitutív aktiválódásához vezet. A Wnt jelátvitel tartós aktivációja hajtja a sejtek proliferációját és hozzájárul a tumorigenezishez a Wilms3-ban, ami kulcsfontosságú modellé teszi a CTNNB1 mutációk hatásának tanulmányozására egy részben funkcionális WT1 háttérrel összefüggésben.
Fenotípusosan a Wilms3 sejtek mesenchymális morfológiát mutatnak, vimentint expresszálnak, és hiányzik belőlük a citokeratin, ami összhangban van az eredeti tumorban megfigyelt stromális jellemzőkkel. Ezek a sejtek korlátozott differenciálódási potenciált mutatnak, és bizonyos körülmények között képesek némi mesenchymális differenciálódásra. A Wilms3 proteomikai elemzései számos receptor-tirozin-kináz (RTK), köztük a PDGFRβ és az AXL aktiválódását mutatták ki, amelyek támogatják a sejtek túlélését és proliferációját. Emellett olyan downstream jelátviteli útvonalak, mint a MAPK és a PI3K/AKT aktiválódnak, ami erősíti a Wilms3 sejtek rosszindulatú tulajdonságait.
A Wilms3 egyik egyedülálló aspektusa a WT1 részleges funkcionalitása, ami külön perspektívát nyújt arra vonatkozóan, hogy a WT1 mutációk hogyan járulnak hozzá a Wilms-tumor biológiájához, amikor a mutáció nem teljes. A Wilms3-ban a WT1 és a Wnt jelátvitel közötti kölcsönhatás értékes lehetőséget kínál az ezen útvonalaknak a daganatok fejlődésében játszott árnyalt szerepének tanulmányozására. Összességében a Wilms3 fontos modellként szolgál a Wilms-tumor hátterében álló molekuláris mechanizmusok vizsgálatához a részleges WT1-vesztés és a konstitutív Wnt-útvonal aktiválódása esetén.

Szövet	Vese
Betegség	Wilms-tumor

Alkalmazások

In vitro sejtkultúra modell. Biokémiai vizsgálatok

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Férfi
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
Biológiai biztonsági szint	1

JELLEMZŐK

Morfológia	Orsó alakú
Sejttípus	Wilms sejtek

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

Wilms3 (Cytion katalógusszám: 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 adóazonosító szám	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SF

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Mutációs profil

WT1 mutációs státusz: homozigóta c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutációs státusz: vad típus

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

MSCGM kit (a Lonzától)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.
Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	11-12 hónap
Etnikai hovatartozás	Kaukázusi

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Anyagátadási megállapodás szükséges	Yes