Wilms3

300414

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

Wilms3 ląstelių linija buvo sukurta iš pirminio Vilmso naviko, kuris buvo diagnozuotas pediatriniam pacientui ir kuriam buvo būdinga somatinė WT1 mutacija. Skirtingai nuo daugelio kitų Vilmso naviko ląstelių linijų, "Wilms3" turi heterozigotinę WT1 geno mutaciją (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), dėl kurios susidaro sutrumpintas WT1 baltymas. Šis dalinis WT1 funkcijos praradimas yra susijęs su stromos arba mezenchiminio fenotipo navikų vystymusi. Tačiau WT1 mutacija Wilms3 nėra homozigotinė, o tai dar labiau apsunkina tyrimą, nes ji išlaiko tam tikrą WT1 funkciją, kuri gali skirtingai paveikti naviko biologiją, palyginti su ląstelių linijomis, visiškai praradusiomis WT1.
Wilms3 taip pat turi CTNNB1 geno mutaciją, ypač pažeidžiančią 41 treoniną (p.T41A), kuris atlieka svarbų vaidmenį Wnt signalų kelyje. Ši mutacija stabilizuoja β-kateniną, neleidžia jam skaidytis ir lemia konstitucinį Wnt kelio aktyvavimą. Nuolatinis Wnt signalo aktyvavimas skatina ląstelių proliferaciją ir prisideda prie Wilms3 navikų susidarymo, todėl šis virusas yra pagrindinis CTNNB1 mutacijų poveikio iš dalies veikiančio WT1 fono kontekste tyrimo modelis.
Fenotipiškai Wilms3 ląstelės pasižymi mezenchimine morfologija, jose ekspresuojamas vimentinas ir trūksta citokeratino, o tai atitinka pirminio naviko stromos savybes. Šios ląstelės pasižymi ribotu diferenciacijos potencialu, o tam tikromis sąlygomis gali pereiti tam tikrą mezenchiminę diferenciaciją. Atlikus Wilms3 proteominę analizę paaiškėjo, kad aktyvuotos kelios receptorių tirozino kinazės (RTK), įskaitant PDGFRβ ir AXL, kurios palaiko ląstelių išlikimą ir proliferaciją. Be to, suaktyvėja tolesni signaliniai keliai, tokie kaip MAPK ir PI3K/AKT, todėl sustiprėja piktybinės Wilms3 ląstelių savybės.
Išskirtinis Wilms3 aspektas yra dalinis WT1 funkcionalumas, kuris leidžia suprasti, kaip WT1 mutacijos prisideda prie Wilms naviko biologijos, kai mutacija nėra visiška. WT1 ir Wnt signalų sąveika Wilms3 sistemoje suteikia vertingą galimybę ištirti šių kelių niuansų vaidmenį naviko vystymuisi. Apskritai Wilms3 yra svarbus modelis, kuriuo galima tirti molekulinius mechanizmus, lemiančius Wilms naviko atsiradimą, kai yra dalinis WT1 praradimas ir konstitucinis Wnt kelio suaktyvėjimas.

Audinys	Inkstai
Liga	Vilmso navikas

Paraiškos

In vitro ląstelių kultūros modelis. Biocheminiai tyrimai

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Vyras
Augimo savybės	Prisijungęs
Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Verpstės formos
Ląstelių tipas	Vilmso ląstelės

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

Wilms3 (Cytion katalogo numeris 300414)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9606

Cellosaurus	CVCL_A5SF

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Mutacijų profilis

WT1 mutacijos būklė: homozigotinė c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutacijos būklė: laukinis tipas

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

MSCGM rinkinys (iš "Lonza")

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.
Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	11-12 mėnesių
Etninė priklausomybė	Kaukaziečių

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Reikalinga medžiagų perdavimo sutartis	Yes