Wilms3

300414

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

Wilms3-cellelinjen ble etablert fra en primær Wilms-svulst hos en pediatrisk pasient, karakterisert av en somatisk WT1-mutasjon. I motsetning til mange andre Wilms-svulstcellelinjer har Wilms3 en heterozygot rammeskiftmutasjon i WT1-genet (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), noe som fører til produksjon av et avkortet WT1-protein. Dette delvise tapet av WT1-funksjonen er forbundet med utvikling av svulster som viser en stromal eller mesenkymal fenotype. WT1-mutasjonen i Wilms3 er imidlertid ikke homozygot, noe som gjør det mer komplisert å studere den, ettersom den beholder noe WT1-funksjon som kan påvirke tumorbiologien på en annen måte enn cellelinjer med fullstendig WT1-tap. Wilms3 har også en mutasjon i CTNNB1-genet, som spesifikt påvirker treonin 41 (p.T41A), som spiller en kritisk rolle i Wnt-signalveien. Denne mutasjonen stabiliserer β-Catenin, forhindrer nedbrytning og fører til en konstitutiv aktivering av Wnt-signalveien. Den vedvarende aktiveringen av Wnt-signalering driver celleproliferasjon og bidrar til tumorutvikling i Wilms3, noe som gjør den til en viktig modell for å studere effekten av CTNNB1-mutasjoner i sammenheng med en delvis funksjonell WT1-bakgrunn.
Fenotypisk har Wilms3-celler en mesenkymlignende morfologi, uttrykker vimentin og mangler cytokeratin, noe som samsvarer med de stromale egenskapene som ble observert i den opprinnelige svulsten. Disse cellene viser begrenset differensieringspotensial, med evne til å gjennomgå en viss mesenkymal differensiering under spesifikke forhold. Proteomanalyser av Wilms3 har avdekket aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), blant annet PDGFRβ og AXL, som bidrar til celleoverlevelse og -proliferasjon. I tillegg aktiveres nedstrøms signalveier som MAPK og PI3K/AKT, noe som forsterker Wilms3-cellenes ondartede egenskaper.
Et unikt aspekt ved Wilms3 er den delvise WT1-funksjonaliteten, noe som gir et nytt perspektiv på hvordan WT1-mutasjoner bidrar til Wilms-svulstens biologi når mutasjonen ikke er fullstendig. Samspillet mellom WT1- og Wnt-signalering i Wilms3 gir en verdifull mulighet til å studere de nyanserte rollene disse signalveiene spiller i tumorutvikling. Wilms3 er en viktig modell for å undersøke de molekylære mekanismene som ligger til grunn for Wilms-svulster ved delvis tap av WT1 og konstitutiv aktivering av Wnt-signalveier.

Vev	Nyre
Sykdom	Wilms-svulst

Søknader

In vitro-cellekulturmodell. Biokjemiske studier

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Sex	Mann
Vekstegenskaper	Tilhenger
Biosikkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

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

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Mutasjonsprofil

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

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

MSCGM-sett (fra Lonza)

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.
Dissosiasjonsmiddel	Accutase

Subkultivering

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Donorens alder	11-12 måneder
Etnisitet	Kaukasisk

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtale om materialoverføring kreves	Yes