Wilms3

300414

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa Wilms3 została utworzona z pierwotnego guza Wilmsa u pacjenta pediatrycznego, charakteryzującego się mutacją somatyczną WT1. W przeciwieństwie do wielu innych linii komórkowych guza Wilmsa, Wilms3 posiada heterozygotyczną mutację przesunięcia ramki w genie WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), prowadzącą do produkcji skróconego białka WT1. Ta częściowa utrata funkcji WT1 jest związana z rozwojem guzów, które wykazują fenotyp zrębu lub mezenchymalny. Jednak mutacja WT1 w Wilms3 nie jest homozygotyczna, co zwiększa złożoność jej badania, ponieważ zachowuje pewną funkcję WT1, która może wpływać na biologię guza inaczej niż linie komórkowe z całkowitą utratą WT1.
Wilms3 jest również nosicielem mutacji w genie CTNNB1, w szczególności wpływającej na treoninę 41 (p.T41A), która odgrywa kluczową rolę w szlaku sygnałowym Wnt. Mutacja ta stabilizuje β-kateninę, zapobiegając jej degradacji i prowadząc do konstytutywnej aktywacji szlaku Wnt. Utrzymująca się aktywacja sygnalizacji Wnt napędza proliferację komórek i przyczynia się do nowotworzenia w Wilms3, co czyni go kluczowym modelem do badania wpływu mutacji CTNNB1 w kontekście częściowo funkcjonalnego tła WT1.
Fenotypowo, komórki Wilms3 wykazują morfologię mezenchymalną, ekspresję wimentyny i brak cytokeratyny, co jest zgodne z cechami zrębu obserwowanymi w pierwotnym guzie. Komórki te wykazują ograniczony potencjał różnicowania, ze zdolnością do różnicowania mezenchymalnego w określonych warunkach. Analizy proteomiczne Wilms3 ujawniły aktywację kilku receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK), w tym PDGFRβ i AXL, które wspierają przeżycie i proliferację komórek. Dodatkowo, aktywowane są dalsze szlaki sygnałowe, takie jak MAPK i PI3K/AKT, wzmacniając złośliwe właściwości komórek Wilms3.
Jednym z unikalnych aspektów Wilms3 jest jego częściowa funkcjonalność WT1, co zapewnia odrębną perspektywę na to, w jaki sposób mutacje WT1 przyczyniają się do biologii guza Wilmsa, gdy mutacja nie jest kompletna. Wzajemne oddziaływanie między WT1 i sygnalizacją Wnt w Wilms3 oferuje cenną okazję do zbadania zniuansowanych ról, jakie te szlaki odgrywają w rozwoju nowotworu. Ogólnie rzecz biorąc, Wilms3 służy jako ważny model do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw guza Wilmsa w obecności częściowej utraty WT1 i konstytutywnej aktywacji szlaku Wnt.

Chusteczka	Nerka
Choroba	Guz Wilmsa

Zastosowania

Model hodowli komórkowej in vitro. Badania biochemiczne

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Mężczyzna
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Wrzecionowaty kształt
Typ komórki	Komórki Wilmsa

IDENTYFIKATORY

Źródło

Wilms3 (numer katalogowy Cytion 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

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SF

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Profil mutacji

Status mutacji WT1: homozygotyczny c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, status mutacji CTNNB1: typ dziki

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

Zestaw MSCGM (od Lonza)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.
Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	11-12 miesięcy
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes

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