# Wilms3

300414

## SPLOŠNE INFORMACIJE

### Opis

Celična linija Wilms3 je bila pridobljena iz primarnega Wilmsovega tumorja pri pediatričnem bolniku, za katerega je bila značilna somatska mutacija WT1. Za razliko od številnih drugih celičnih linij tumorjev Wilms ima Wilms3 heterozigotsko mutacijo premik okvirja v genu WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), zaradi česar nastaja skrajšana beljakovina WT1. Ta delna izguba funkcije WT1 je povezana z razvojem tumorjev, ki imajo stromalni ali mezenhimski fenotip. Vendar mutacija WT1 pri Wilms3 ni homozigotna, kar še dodatno zaplete njeno preučevanje, saj ohrani del funkcije WT1, ki lahko drugače vpliva na biologijo tumorja v primerjavi s celičnimi linijami s popolno izgubo WT1. Wilms3 ima tudi mutacijo v genu CTNNB1, ki prizadene predvsem treonin 41 (p.T41A), ki ima ključno vlogo v signalni poti Wnt. Ta mutacija stabilizira β-katenin, kar preprečuje njegovo razgradnjo in vodi do konstitutivne aktivacije poti Wnt. Vztrajna aktivacija signalizacije Wnt spodbuja proliferacijo celic in prispeva k tumorigenezi pri Wilms3, zaradi česar je Wilms3 ključni model za preučevanje vpliva mutacij CTNNB1 v okviru delno funkcionalnega ozadja WT1.
Fenotipsko imajo celice Wilms3 mezenhimsko morfologijo, izražajo vimentin in nimajo citokeratina, kar ustreza stromalnim značilnostim, opaženim v prvotnem tumorju. Te celice imajo omejen diferenciacijski potencial, pod posebnimi pogoji pa so sposobne mezenhimske diferenciacije. Proteomske analize Wilms3 so razkrile aktivacijo več receptorskih tirozinskih kinaz (RTK), vključno s PDGFRβ in AXL, ki podpirajo preživetje in proliferacijo celic. Poleg tega se aktivirajo signalne poti, kot sta MAPK in PI3K/AKT, kar krepi maligne lastnosti celic Wilms3.
Edinstven vidik Wilms3 je delna funkcionalnost WT1, kar omogoča poseben pogled na to, kako mutacije WT1 prispevajo k biologiji tumorjev Wilms, kadar mutacija ni popolna. Vzajemno delovanje med signalizacijo WT1 in Wnt v Wilms3 ponuja dragoceno priložnost za preučevanje raznolikih vlog, ki jih imata ti poti pri razvoju tumorjev. Na splošno je Wilms3 pomemben model za raziskovanje molekularnih mehanizmov, ki so podlaga za nastanek tumorja Wilms ob delni izgubi WT1 in konstitutivni aktivaciji poti Wnt.

| | |
|---|---|
| **Tkivo** | Ledvice |
| **Bolezen** | Wilmsov tumor |

### Uporaba

In vitro model celične kulture. Biokemične študije

## RAZVRSTITEV

| | |
|---|---|
| **Organizem** | Človek |
| **Seks** | Moški |
| **Lastnosti rasti** | Pripadnik |
| **Stopnja biološke varnosti** | 1 |

## ZNAČILNOSTI

| | |
|---|---|
| **Morfologija** | Vretenasta oblika |
| **Vrsta celice** | Wilmsove celice |

## IDENTIFIKATORJI

### Navajanje vira

Wilms3 (kataloška številka Cytion 300414)

| | |
|---|---|
| **Davčna identifikacijska številka NCBI** | 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 |

## IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

### Profil mutacij

Status mutacije WT1: homozigotna c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, status mutacije CTNNB1: divji tip

## RAVNANJE IN GOJENJE

### Gojišče

Komplet MSCGM (Lonza)

| | |
|---|---|
| **Inkubacijska atmosfera** | 37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje. |
| **Reagenca za disociacijo** | Accutase |

### Preusmeritev v drugo kulturo

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

### Odtaljevanje in gojenje

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 KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

### Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.
Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

| | |
|---|---|
| **Medij za zamrzovanje** | Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom. |

### Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

### Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## DONATOR

| | |
|---|---|
| **Starost darovalca** | 11-12 mesecev |
| **Etnična pripadnost** | Kavkaški |

## PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

### Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

### Garancija

V podjetju Cytіon stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

| | |
|---|---|
| **Potreben je sporazum o prenosu materiala** | Yes |