# Wilms3

300414

## GENEL BILGILER

### Açıklama

Wilms3 hücre hattı, somatik WT1 mutasyonu ile karakterize edilen bir pediatrik hastadaki primer Wilms tümöründen oluşturulmuştur. Diğer birçok Wilms tümör hücre hattından farklı olarak Wilms3, WT1 geninde heterozigot bir çerçeve kayması mutasyonu (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87) barındırır ve kesilmiş bir WT1 proteininin üretilmesine yol açar. WT1 fonksiyonunun bu kısmi kaybı, stromal veya mezenkimal fenotip gösteren tümörlerin gelişimi ile ilişkilidir. Bununla birlikte, Wilms3'teki WT1 mutasyonu homozigot değildir, bu da çalışmasına karmaşıklık katar, çünkü tam WT1 kaybı olan hücre hatlarına kıyasla tümör biyolojisini farklı şekilde etkileyebilecek bazı WT1 işlevlerini korur. Wilms3 ayrıca CTNNB1 geninde, özellikle Wnt sinyal yolunda kritik bir rol oynayan treonin 41'i (p.T41A) etkileyen bir mutasyon taşır. Bu mutasyon β-Catenin'i stabilize ederek parçalanmasını önler ve Wnt yolunun yapısal aktivasyonuna yol açar. Wnt sinyalinin sürekli aktivasyonu hücre çoğalmasını sağlar ve Wilms3'te tümörigeneze katkıda bulunur, bu da onu CTNNB1 mutasyonlarının kısmen işlevsel bir WT1 arka planı bağlamında etkisini incelemek için önemli bir model haline getirir.
Fenotipik olarak, Wilms3 hücreleri, orijinal tümörde gözlenen stromal özelliklerle tutarlı olarak, vimentin eksprese eden ve sitokeratin içermeyen mezenkimal benzeri bir morfoloji sergiler. Bu hücreler, belirli koşullar altında bir miktar mezenkimal farklılaşma geçirme kabiliyeti ile sınırlı farklılaşma potansiyeli göstermektedir. Wilms3'ün proteomik analizleri, PDGFRβ ve AXL dahil olmak üzere hücre sağkalımını ve çoğalmasını destekleyen çeşitli reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) aktivasyonunu ortaya çıkarmıştır. Ek olarak, MAPK ve PI3K/AKT gibi aşağı akış sinyal yolları aktive edilerek Wilms3 hücrelerinin kötü huylu özelliklerini güçlendirir.
Wilms3'ün benzersiz bir yönü, kısmi WT1 işlevselliğidir; bu da mutasyon tamamlanmadığında WT1 mutasyonlarının Wilms tümör biyolojisine nasıl katkıda bulunduğuna dair farklı bir bakış açısı sağlar. Wilms3'te WT1 ve Wnt sinyali arasındaki etkileşim, bu yolakların tümör gelişiminde oynadığı nüanslı rolleri incelemek için değerli bir fırsat sunmaktadır. Genel olarak Wilms3, kısmi WT1 kaybı ve konstitütif Wnt yolağı aktivasyonu varlığında Wilms tümörünün altında yatan moleküler mekanizmaları araştırmak için önemli bir model olarak hizmet etmektedir.

| | |
|---|---|
| **Doku** | Böbrek |
| **Hastalık** | Wilms tümörü |

### Uygulamalar

In vitro hücre kültürü modeli. Biyokimyasal çalışmalar

## SINIFLANDIRMA

| | |
|---|---|
| **Canlı** | İnsan |
| **Cinsiyet** | Erkek |
| **Büyüme özellikleri** | Bağlı |
| **Biyogüvenlik seviyesi** | 1 |

## ÖZELLIKLER

| | |
|---|---|
| **Morfoloji** | İğ şeklinde |
| **Hücre türü** | Wilms hücreleri |

## TANIMLAYICILAR

### Kaynak gösterimi

Wilms3 (Cytion katalog numarası 300414)

| | |
|---|---|
| **NCBI Vergi Kimlik Numarası** | 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 |

## İFADE VE DUYARLILIK

**Mutasyon profili**

WT1 mutasyon durumu: homozigot c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutasyon durumu: vahşi tip

## İŞLEME VE YETIŞTIRME

**Besiyeri**

MSCGM kiti (Lonza'dan)

| | |
|---|---|
| **Kuluçka ortamı** | 37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer. |
| **Ayrıştırma reaktifi** | Accutase |

**Alt kültür oluşturma**

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

**Çözme ve kültürleme**

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.

## KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

**Kısırlık**

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

| | |
|---|---|
| **Dondurma ortamı** | Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz. |

**Saklama koşulları**

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

**Nakliye koşulları**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## BAĞIŞÇI

| | |
|---|---|
| **Bağışçının yaşı** | 11-12 ay |
| **Etnik köken** | Kafkas |

## YASAL VE GÜVENLIK

### Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

### Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

| | |
|---|---|
| **Malzeme Transfer Anlaşması gereklidir** | 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