Wilms3

300414

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

Клітинну лінію Wilms3 було отримано з первинної пухлини Вільмса у педіатричного пацієнта, що характеризується соматичною мутацією WT1. На відміну від багатьох інших клітинних ліній пухлини Вільмса, лінія Wilms3 має гетерозиготну мутацію зсуву рамки в гені WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), що призводить до вироблення усіченого білка WT1. Ця часткова втрата функції WT1 пов'язана з розвитком пухлин, які мають стромальний або мезенхімальний фенотип. Однак мутація WT1 у Wilms3 не є гомозиготною, що додає складнощів у її вивченні, оскільки вона зберігає певну функцію WT1, яка може впливати на біологію пухлини інакше, ніж клітинні лінії з повною втратою WT1.
Wilms3 також несе мутацію в гені CTNNB1, що впливає на треонін 41 (p.T41A), який відіграє важливу роль у сигнальному шляху Wnt. Ця мутація стабілізує β-катенін, запобігаючи його деградації та призводить до конститутивної активації шляху Wnt. Стійка активація сигнального шляху Wnt стимулює проліферацію клітин і сприяє пухлиноутворенню в лінії Wilms3, що робить її ключовою моделлю для вивчення впливу мутацій CTNNB1 в контексті частково функціонального фону WT1.
Фенотипічно клітини Wilms3 мають мезенхімальну морфологію, експресують віментин і не містять цитокератину, що відповідає стромальним характеристикам, які спостерігаються у вихідній пухлині. Ці клітини мають обмежений потенціал диференціювання, але здатні до мезенхімального диференціювання за певних умов. Протеомний аналіз Wilms3 виявив активацію декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), включаючи PDGFRβ і AXL, які підтримують виживання і проліферацію клітин. Крім того, активуються наступні сигнальні шляхи, такі як MAPK і PI3K/AKT, що посилює злоякісні властивості клітин Wilms3.
Одним з унікальних аспектів Wilms3 є часткова функціональність WT1, що дає чітке уявлення про те, як мутації WT1 впливають на біологію пухлини Вільмса, коли мутація не є повною. Взаємодія між сигналами WT1 і Wnt у Wilms3 дає цінну можливість вивчити нюанси ролі цих шляхів у розвитку пухлин. В цілому, Wilms3 слугує важливою моделлю для дослідження молекулярних механізмів, що лежать в основі пухлини Вільмса за наявності часткової втрати WT1 та конститутивної активації шляху Wnt.

Тканина	Нирка
Хвороба	Пухлина Вільмса

Застосування

Модель культури клітин in vitro. Біохімічні дослідження

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Чоловік
Характеристики росту	Прихильник
Рівень біобезпеки	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Веретеноподібна форма
Тип клітини	Клітини Вільмса

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

Wilms3 (номер за каталогом 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

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	CVCL_A5SF

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Профіль мутацій

Статус мутації WT1: гомозиготний c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, статус мутації CTNNB1: дикий тип

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

Комплект MSCGM (від Lonza)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.
Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	11-12 місяців
Етнічна приналежність	Кавказець

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Необхідна угода про передачу матеріалів	Yes