Wilms6

300415

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celična linija Wilms6 je bila pridobljena iz primarnega Wilmsovega tumorja pri pediatričnem bolniku z zarodno mutacijo WT1. To celično linijo opredeljuje homozigotna mutacija nonsense v genu WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), ki povzroča skrajšano in nefunkcionalno beljakovino WT1. WT1 je ključni regulator razvoja ledvic, njegova izguba pa je močno povezana z Wilmsovim tumorjem, zlasti v primerih z mezenhimsko diferenciacijo. Celična linija Wilms6 je pomemben model za preučevanje tumorigenih učinkov popolne izgube WT1, zlasti pri tumorjih, ki imajo tako epitelijske kot mezenhimske značilnosti.
Celice Wilms6 imajo tudi mutacijo v genu CTNNB1, ki prizadene predvsem serin 45 (p.S45F), ključno mesto za fosforilacijo, ki uravnava razgradnjo β-katenina. Ta mutacija povzroči stabilizacijo in jedrno kopičenje β-katenina, kar povzroči konstitutivno aktivacijo signalne poti Wnt. Nenormalna aktivacija signalizacije Wnt je znano gonilo celične proliferacije in tumorigeneze v tumorjih Wilms, zato je Wilms6 dragoceno orodje za raziskovanje vloge disregulacije poti Wnt v tumorjih z mutacijami WT1.
Fenotipsko imajo celice Wilms6 mezenhimsko morfologijo z močnim izražanjem vimentina in odsotnostjo epitelijskih označevalcev, kot je citokeratin, kar odraža stromalno naravo prvotnega tumorja. Pokazalo se je, da imajo te celice omejen, vendar opazen diferenciacijski potencial, vključno s sposobnostjo diferenciacije v mišične celice pod posebnimi pogoji, kar odraža mezenhimsko diferenciacijo, opaženo v nekaterih tumorjih Wilms. Proteomske študije Wilms6 so pokazale aktivacijo številnih receptorskih tirozinskih kinaz (RTK), vključno s PDGFRβ in AXL, ki sodelujejo pri spodbujanju preživetja, proliferacije in migracije celic. Aktivacija signalnih poti, kot sta MAPK in PI3K/AKT, še dodatno poudarja agresivno naravo te celične linije.
Na splošno je celična linija Wilms6 ključni model za raziskovanje molekularnih mehanizmov, na katerih temelji razvoj tumorjev Wilms, zlasti v primerih popolne izgube WT1 v kombinaciji z aktivacijo signalizacije Wnt. Zaradi svojih genetskih in fenotipskih značilnosti je odlična platforma za preučevanje medsebojnega vpliva med pomanjkanjem WT1 in aberantnimi signalnimi potmi, kar omogoča vpogled v možne terapevtske cilje za to agresivno vrsto tumorja.

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

Wilms6 (kataloška številka Cytion 300415)

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

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SI

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Profil mutacij

Status mutacije WT1: homozigotna c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, status mutacije CTNNB1: homozigotna del TCT, p.DS45

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	15 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