Wilms8

300416

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

Клетъчната линия Wilms8 е получена от първичен тумор на Wilms при педиатричен пациент със зародишна мутация на WT1. Тази клетъчна линия се характеризира с хомозиготна nonsense мутация в гена WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), която води до пълна загуба на функцията на WT1. WT1 е от решаващо значение за нормалното развитие на бъбреците, а инактивирането му е обща характеристика при някои агресивни подтипове на тумора на Вилмс, особено тези, които проявяват мезенхимна диференциация. Следователно Wilms8 представлява ценен модел за изучаване на ефектите от загубата на WT1 върху туморогенезата, особено в контекста на туморите на Wilms, които възникват с ясно изразен стромален компонент.
В допълнение към мутацията на WT1, клетките Wilms8 съдържат мутация в гена CTNNB1 (p.S45A), който кодира β-Катенин, ключов регулатор на сигналния път на Wnt. Мутацията на серин 45 нарушава нормалния процес на фосфорилиране, който води до разграждане на β-Catenin, като води до неговото стабилизиране и натрупване в ядрото. Това води до конститутивно активиране на Wnt сигнализацията, която стимулира клетъчната пролиферация и допринася за онкогенните свойства на клетъчната линия Wilms8. Взаимодействието между загубата на WT1 и аберантната Wnt сигнализация при Wilms8 я превръща в ключов модел за разбиране на молекулярните механизми, лежащи в основата на тези пътища в туморната биология на Wilms.
Клетките Wilms8 показват мезенхимен фенотип, характеризиращ се с експресия на виментин и липса на епителни маркери като цитокератин. Това съответства на стромалната диференциация, наблюдавана в оригиналния тумор. Клетките демонстрират ограничена способност за по-нататъшна мезенхимна диференциация, като например образуване на мускулоподобни клетки при специфични условия. Протеомичните анализи на Wilms8 разкриват активирането на множество рецепторни тирозинкинази (RTKs), включително PDGFRβ и AXL, които участват в ключови процеси като оцеляване, миграция и пролиферация на клетките. Активирането на сигналните пътища надолу по веригата, особено на MAPK и PI3K/AKT, допълнително допринася за агресивните характеристики на клетките Wilms8.
Като цяло клетъчната линия Wilms8 служи като важен инструмент за изследване на молекулярната основа на тумора на Wilms, причинен от загубата на WT1 и аберантната Wnt сигнализация. Нейните генетични и фенотипни характеристики я превръщат в надеждна платформа за изследване на взаимодействието между тези критични пътища и за идентифициране на потенциални терапевтични цели при тумори на Wilms със стромален компонент.

Тъкан	Бъбреци
Заболяване	Тумор на Вилмс

Приложения

Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Секс	Мъж
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Ниво на биологична безопасност	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфология	С форма на вретено
Тип клетка	Клетки на Вилмс

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

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

Wilms8 (каталожен номер 300416 на Cytion)

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	CVCL_A5SJ

ПРОЯВА И ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ

Мутационен профил

Статус на мутацията на WT1: хомозиготна c.1168C>T, p.390x, LOH: , статус на мутацията на CTNNB1: хетерозиготна TCT>GCT, p.S45A

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

Комплект MSCGM (от Lonza)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.
Реагент за дисоциация	Accutase

Пресаждане

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Размразяване и култивиране

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.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

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

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Възраст на донора	8 месеца
Етническа принадлежност	Кавказки

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Необходимо е споразумение за прехвърляне на материали	Yes