Wilms8

300416

OBECNÉ INFORMACE

Popis

Buněčná linie Wilms8 byla odvozena z primárního Wilmsova nádoru u dětského pacienta se zárodečnou mutací WT1. Tato buněčná linie je charakterizována homozygotní nonsense mutací v genu WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), která vede k úplné ztrátě funkce WT1. WT1 je klíčový pro normální vývoj ledvin a jeho inaktivace je běžným rysem u některých agresivních podtypů Wilmsova nádoru, zejména těch, které vykazují mezenchymální diferenciaci. Wilms8 proto představuje cenný model pro studium vlivu ztráty WT1 na tumorigenezi, zejména v kontextu Wilmsových nádorů, které vznikají s výraznou stromální složkou.
Kromě mutace WT1 nesou buňky Wilms8 mutaci v genu CTNNB1 (p.S45A), který kóduje β-katenin, klíčový regulátor signální dráhy Wnt. Mutace na serinu 45 narušuje normální proces fosforylace, který vede k degradaci β-Cateninu, a způsobuje jeho stabilizaci a akumulaci v jádře. To má za následek konstitutivní aktivaci signalizace Wnt, která pohání buněčnou proliferaci a přispívá k onkogenním vlastnostem buněčné linie Wilms8. Vzájemné působení mezi ztrátou WT1 a aberantní signalizací Wnt u Wilms8 z ní činí klíčový model pro pochopení molekulárních mechanismů, které jsou základem těchto drah v biologii nádorů Wilms.
Buňky Wilms8 vykazují mezenchymální fenotyp charakterizovaný expresí vimentinu a absencí epiteliálních markerů, jako je cytokeratin. To odpovídá stromální diferenciaci pozorované v původním nádoru. Buňky vykazují omezenou schopnost podstoupit další mezenchymální diferenciaci, například za specifických podmínek vytvářet buňky podobné svalům. Proteomické analýzy Wilmsova8 nádoru odhalily aktivaci mnoha receptorových tyrozinkináz (RTK), včetně PDGFRβ a AXL, které se podílejí na klíčových procesech, jako je přežívání, migrace a proliferace buněk. K agresivním vlastnostem buněk Wilms8 dále přispívá aktivace navazujících signálních drah, zejména drah MAPK a PI3K/AKT.
Celkově lze říci, že buněčná linie Wilms8 slouží jako základní nástroj pro zkoumání molekulárního základu Wilmsova nádoru způsobeného ztrátou WT1 a aberantní signalizací Wnt. Její genetické a fenotypové vlastnosti z ní činí robustní platformu pro studium interakce mezi těmito kritickými drahami a pro identifikaci potenciálních terapeutických cílů u Wilmsových nádorů se stromální složkou.

Tkáň	Ledviny
Nemoc	Wilmsův nádor

Aplikace

Model buněčné kultury in vitro. Biochemické studie

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Sex	Muž
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Úroveň biologické bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKA

Morfologie	Vřetenovitý tvar
Typ buňky	Wilmsovy buňky

IDENTIFIKÁTORY

Citace

Wilms8 (katalogové číslo Cytion 300416)

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

Daňové identifikační číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

EXPRESE A NÁCHYLNOST

Mutační profil

Stav mutace WT1: homozygotní c.1168C>T, p.390x, LOH: , stav mutace CTNNB1: heterozygotní TCT>GCT, p.S45A

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

Souprava MSCGM (od společnosti Lonza)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.
Disociační činidlo	Accutase

Subkultivace

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Rozmrazování a kultivace

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 KVALITY A KRYOKONZERVACE

Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DÁRCE

Věk dárce	8 měsíců
Etnická příslušnost	Kavkazský

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Je nutná smlouva o převodu materiálu	Yes