Wilms8

300416

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

Bunková línia Wilms8 bola odvodená z primárneho Wilmsovho nádoru u detského pacienta so zárodočnou mutáciou WT1. Táto bunková línia je charakterizovaná homozygotnou nezmyselnou mutáciou v géne WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), ktorá vedie k úplnej strate funkcie WT1. WT1 je kľúčový pre normálny vývoj obličiek a jeho inaktivácia je spoločným znakom určitých agresívnych podtypov Wilmsovho nádoru, najmä tých, ktoré vykazujú mezenchymálnu diferenciáciu. Wilms8 preto predstavuje cenný model na štúdium účinkov straty WT1 na tumorigenézu, najmä v kontexte Wilmsových nádorov, ktoré vznikajú s výraznou stromálnou zložkou.
Okrem mutácie WT1 majú bunky Wilms8 mutáciu v géne CTNNB1 (p.S45A), ktorý kóduje β-katenín, kľúčový regulátor signálnej dráhy Wnt. Mutácia na seríne 45 narúša normálny proces fosforylácie, ktorý vedie k degradácii β-Cateninu, čo spôsobuje jeho stabilizáciu a akumuláciu v jadre. To má za následok konštitutívnu aktiváciu signalizácie Wnt, ktorá poháňa proliferáciu buniek a prispieva k onkogénnym vlastnostiam bunkovej línie Wilms8. Vzájomné pôsobenie medzi stratou WT1 a aberantnou signalizáciou Wnt v Wilms8 z nej robí kľúčový model na pochopenie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom týchto dráh v biológii nádorov Wilms.
Bunky Wilms8 vykazujú mezenchýmový fenotyp, ktorý je charakterizovaný expresiou vimentínu a absenciou epitelových markerov, ako je cytokeratín. To zodpovedá stromálnej diferenciácii pozorovanej v pôvodnom nádore. Bunky vykazujú obmedzenú schopnosť podstúpiť ďalšiu mezenchymálnu diferenciáciu, napríklad tvorbu buniek podobných svalom za špecifických podmienok. Proteomické analýzy Wilmsovho8 nádoru odhalili aktiváciu viacerých receptorových tyrozínkináz (RTK) vrátane PDGFRβ a AXL, ktoré sa podieľajú na kľúčových procesoch, ako je prežívanie, migrácia a proliferácia buniek. Aktivácia nadväzujúcich signálnych dráh, najmä dráh MAPK a PI3K/AKT, ďalej prispieva k agresívnym vlastnostiam buniek Wilms8.
Celkovo slúži bunková línia Wilms8 ako základný nástroj na skúmanie molekulárnej podstaty Wilmsovho nádoru spôsobeného stratou WT1 a aberantnou signalizáciou Wnt. Jej genetické a fenotypové vlastnosti z nej robia robustnú platformu na štúdium interakcie medzi týmito kritickými dráhami a na identifikáciu potenciálnych terapeutických cieľov v nádoroch Wilms so stromálnou zložkou.

Tkanivo	Obličky
Choroba	Wilmsov nádor

Aplikácie

Model bunkovej kultúry in vitro. Biochemické štúdie

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Človek
Sex	Muž
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Úroveň biologickej bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKY

Morfológia	Vreteno v tvare vretena
Typ bunky	Wilmsove bunky

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

Wilms8 (katalógové 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 identifikačné číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

PREJAV A NÁCHYLNOSŤ

Mutčný profil

Stav mutácie WT1: homozygotná c.1168C>T, p.390x, LOH: , stav mutácie CTNNB1: heterozygotná TCT>GCT, p.S45A

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

Súprava MSCGM (od spoločnosti Lonza)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.
Disociačné činidlo	Accutase

Rozmnožovanie kultúr

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Rozmrazovanie a kultivácia

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 KRYOKONZERVÁCIA

Sterilita

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Mrazové médium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

DARCA

Vek darcu	8 mesiacov
Etnická príslušnosť	Kaukazský

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Je potrebná dohoda o prenose materiálu	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