Wilms8

300416

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celična linija Wilms8 je bila pridobljena iz primarnega Wilmsovega tumorja pri pediatričnem bolniku z zarodno mutacijo WT1. Za to celično linijo je značilna homozigotna nesmiselna mutacija v genu WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), ki povzroči popolno izgubo funkcije WT1. WT1 je ključnega pomena za normalen razvoj ledvic, njegova inaktivacija pa je skupna značilnost nekaterih agresivnih podtipov Wilmsovega tumorja, zlasti tistih, ki kažejo mezenhimsko diferenciacijo. Wilms8 je zato dragocen model za preučevanje učinkov izgube WT1 na tumorigenezo, zlasti v okviru Wilmsovih tumorjev, ki nastanejo z izrazito stromalno komponento.
Poleg mutacije WT1 imajo celice Wilms8 tudi mutacijo v genu CTNNB1 (p.S45A), ki kodira β-katenin, ključni regulator signalne poti Wnt. Mutacija na serinu 45 prekine normalen proces fosforilacije, ki vodi do razgradnje β-katenina, kar povzroči njegovo stabilizacijo in kopičenje v jedru. To povzroči konstitutivno aktivacijo signalizacije Wnt, ki spodbuja proliferacijo celic in prispeva k onkogenim lastnostim celične linije Wilms8. Zaradi medsebojnega vpliva med izgubo WT1 in aberantno signalizacijo Wnt je linija Wilms8 ključni model za razumevanje molekularnih mehanizmov, na katerih temeljijo te poti v biologiji tumorjev Wilms.
Celice Wilms8 imajo mezenhimski fenotip, za katerega je značilno izražanje vimentina in odsotnost epitelijskih označevalcev, kot je citokeratin. To se ujema s stromalno diferenciacijo, opaženo v prvotnem tumorju. Celice kažejo omejeno sposobnost nadaljnje mezenhimske diferenciacije, na primer oblikovanje mišicam podobnih celic pod posebnimi pogoji. Proteomske analize Wilms8 so razkrile aktivacijo številnih receptorskih tirozin kinaz (RTK), vključno s PDGFRβ in AXL, ki sodelujejo pri ključnih procesih, kot so preživetje, migracija in proliferacija celic. K agresivnim značilnostim celic Wilms8 prispeva tudi aktivacija signalnih poti, zlasti poti MAPK in PI3K/AKT.
Na splošno je celična linija Wilms8 pomembno orodje za raziskovanje molekularne osnove tumorja Wilms, ki ga povzročata izguba WT1 in aberantna signalizacija Wnt. Zaradi svojih genetskih in fenotipskih značilnosti je zanesljiva platforma za preučevanje interakcije med temi kritičnimi potmi in za ugotavljanje morebitnih terapevtskih ciljev pri tumorjih Wilms s stromalno komponento.

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

Wilms8 (kataloška številka Cytion 300416)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606

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

Cellosaurus	CVCL_A5SJ

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Profil mutacij

Status mutacije WT1: homozigotna c.1168C>T, p.390x, LOH: , status mutacije CTNNB1: heterozigotna TCT>GCT, p.S45A

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	8 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