Wilms1

300411

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

Wilms1 rakuliin on saadud Wilmsi kasvaja primaarsest proovist, mis saadi patsiendilt, kellel esinesid suured kahepoolsed neerukasvajad, mis viitavad Wilmsi kasvajale, mis on pediaatriline nefroblastoom. Selles rakuliinis on homosügootne nonsense-mutatsioon WT1 geenis (c.149 C>A, p.S50X), mille tulemuseks on kärbitud ja mittefunktsionaalne WT1 valk. WT1-geen, mis on neerude arengu ja funktsiooni jaoks kriitilise tähtsusega, on Wilmsi kasvajate puhul sageli muteerunud, eriti stromaalse alatüübiga kasvajate puhul, millel on ektoopiline mesenhüümiline diferentseerumine. Wilms1 rakud kujutavad seega ainulaadset in vitro mudelit WT1 funktsiooni kaotuse tagajärgede uurimiseks kasvajate bioloogias.
Wilms1 rakuliin säilitab stabiilse karyotüübi ilma oluliste kromosoomianomaaliateta, mis võimaldab usaldusväärset pikaajalist kasvatamist. Nendel rakkudel on mesenhüümiline fenotüüp, mida iseloomustab vimentiini ekspressioon ja epiteeli markerite, näiteks tsütokeratiini puudumine, mis on kooskõlas nende stromaalse päritoluga. Lisaks sellele on rakuliinil piiratud, kuid märkimisväärne mesenhüümiline diferentseerumisvõime, sealhulgas võime diferentseeruda sobivatel tingimustel lihasarnasteks rakkudeks. See muudab Wilms1 asendamatuks vahendiks mesenhümaalse diferentseerumise molekulaarsete mehhanismide ja selle dereguleerimise uurimiseks Wilmsi kasvaja patogeneesis.
Wilms1 on kasutatud ka tuumori progresseerumises osalevate peamiste signaaliradade aktiveerimise seisundi uurimiseks. Proteoomilised analüüsid on näidanud, et Wilms1 rakkudes esineb mitmete retseptoritürosiini kinaaside, sealhulgas EGFR ja PDGFRβ, fosforüleerimine ja aktiveerimine, samuti allavoolu MAPK-signaaliradade aktiveerimine. Need leiud rõhutavad Wilms1 rakuliini olulisust Wilmsi kasvaja sihtotstarbeliste ravimeetodite uurimisel, uurides nende radade rolli vähirakkude ellujäämises, proliferatsioonis ja diferentseerumises.

Kude	Neerud

Rakendused

In vitro rakukultuuri mudel. Biokeemilised uuringud

Sünonüümid

- Wilms1-2l

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Naine
Kasvuvõime	Järgija
Bioloogilise ohutuse tase	1

OMADUSED

Morfoloogia	Spindlikujuline
Rakutüüp	Wilmsi rakud
Tuumorigeenne	Jah, alasti hiirtel. Moodustab Wilmsi kasvajale vastavate väikeste rakkudega kasvaja (ksenotransplantaadid ei pruugi täielikult esindada Wilmsi kasvajaid, vt E. Kunce Stroup 2017)

Karyotüüp

46, normaalne

Kahekordistumisaeg	24 tundi

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

TUNNUSED

Viide

Wilms1 (Cytioni kataloginumber 300411)

NCBI maksukood	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SC

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Ekspresseeritud retseptorid

Retseptoritürosiini kinaasid EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Mutatsiooniprofiil

WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatsiooni staatus: heterosügootne TCT>TTT, p.S45F

Viirused

HIV-1: negatiivne, HBV: negatiivne, HCV: negatiivne

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

MSCGM komplekt (Lonza)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.
Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Külvitihedus	1 x 10^4 rakku/cm^2
Vedeliku vahetus	1 kuni 2 korda nädalas
Taastumine pärast sulamist	Kiire

Sulatamine ja kasvatamine

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.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	2 aastat
Etniline kuuluvus	Kaukaasia

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Vajalik on materjalide üleandmise leping	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