Wilms1

300411

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

Wilms1-solulinja on peräisin primaarisesta Wilmsin kasvainnäytteestä, joka saatiin potilaalta, jolla oli suuria molemminpuolisia munuaiskasvaimia, jotka viittaavat Wilmsin kasvaimeen, joka on pediatrinen nefroblastooma. Tässä solulinjassa on homotsygoottinen nonsense-mutaatio WT1-geenissä (c.149 C>A, p.S50X), joka johtaa typistettyyn ja toimimattomaan WT1-proteiiniin. WT1-geeni, joka on kriittinen munuaisten kehityksen ja toiminnan kannalta, on usein mutaantunut Wilmsin kasvaimissa, erityisesti niissä, joiden stroomaalinen alatyyppi on ektooppinen mesenkymaalinen erilaistuminen. Wilms1-solut edustavat näin ollen ainutlaatuista in vitro -mallia, jolla voidaan tutkia WT1:n toimintakyvyn menetyksen seurauksia kasvainten biologiassa.
Wilms1-solulinja säilyttää vakaan karyotyypin ilman merkittäviä kromosomipoikkeavuuksia, mikä mahdollistaa luotettavan pitkäaikaisen viljelyn. Näillä soluilla on mesenkymaalinen fenotyyppi, jolle on ominaista vimentiinin ilmentyminen ja epiteelimerkkiaineiden, kuten sytokeratiinin, puuttuminen, mikä on johdonmukaista niiden stroomaperäisyyden kanssa. Lisäksi solulinjalla on rajallinen mutta huomattava mesenkymaalinen erilaistumiskyky, mukaan lukien kyky erilaistua lihaksen kaltaisiksi soluiksi sopivissa olosuhteissa. Tämä tekee Wilms1:stä korvaamattoman arvokkaan välineen mesenkymaalisen erilaistumisen molekyylimekanismien ja sen deregulaation tutkimiseen Wilmsin kasvainten patogeneesissä.
Wilms1:n avulla on myös tutkittu kasvaimen etenemiseen osallistuvien keskeisten signaalireittien aktivoitumistilaa. Proteomianalyysit ovat osoittaneet, että Wilms1-soluissa esiintyy useiden reseptorityrosiinikinaasien, kuten EGFR:n ja PDGFRβ:n, fosforylaatioita ja aktivoitumista, samoin kuin myöhempien MAPK-signalointireittien. Nämä havainnot korostavat Wilms1-solulinjan merkitystä tutkittaessa kohdennettuja hoitokeinoja Wilmsin kasvaimiin selvittämällä näiden reittien roolia syöpäsolujen selviytymisessä, lisääntymisessä ja erilaistumisessa.

Kudos	Munuaiset

Sovellukset

In vitro -soluviljelymalli. Biokemialliset tutkimukset

Synonyymit

- Wilms1-2l

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Karanmuotoinen
Solutyyppi	Wilmsin solut
Kasvaimia aiheuttava	Kyllä, alastomilla hiirillä. Muodostaa kasvaimen, jossa on pieniä soluja, jotka vastaavat Wilmsin kasvainta (ks. E. Kunce Stroup 2017)

Karyotyyppi

46, normaali

Kaksinkertaistumisaika	24 tuntia

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

TUNNISTEET

Lähdeviite

Wilms1 (Cytionin luettelonumero 300411)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SC

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Ilmentyvät reseptorit

Reseptorityrosiinikinaasit EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Mutaatioprofiili

WT1-mutaation status: homotsygoottinen c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutaation status: heterotsygoottinen TCT>TTT, p.S45F

Virukset

HIV-1: negatiivinen, HBV: negatiivinen, HCV: negatiivinen

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

MSCGM-pakkaus (Lonza)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.
Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Kylvötiheys	1 x 10^4 solua/cm^2
Nesteen uusiminen	1-2 kertaa viikossa
Sulamisen jälkeinen palautuminen	Nopea

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	2 vuotta
Etnisyys	Kaukasialainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	Yes