Wilms1

300411

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Wilms1 šūnu līnija tika iegūta no primārā Wilms audzēja parauga, kas iegūts no pacienta ar lieliem abpusējiem nieru audzējiem, kas liecina par Wilms audzēju, bērnu nefroblastomu. Šai šūnu līnijai ir homozigotiska bezjēdzīga WT1 gēna mutācija (c.149 C>A, p.S50X), kas izraisa saīsinātu un nefunkcionālu WT1 proteīnu. WT1 gēns, kas ir ļoti svarīgs nieru attīstībai un funkcijām, bieži mutē Vilmsa audzējos, jo īpaši stromas apakštipa audzējos, kam raksturīga ektopiska mezenhīma diferenciācija. Tāpēc Wilms1 šūnas ir unikāls in vitro modelis, lai pētītu WT1 funkcijas zuduma sekas audzēja bioloģijā.
Wilms1 šūnu līnija saglabā stabilu kariotipu bez būtiskām hromosomālām anomālijām, kas ļauj droši audzēt ilgstoši. Šīm šūnām piemīt mezenhīma fenotips, ko raksturo vimentīna ekspresija un tādu epitēlija marķieru kā citokeratīna trūkums, kas atbilst to stromālai izcelsmei. Turklāt šūnu līnija uzrāda ierobežotu, bet ievērojamu mezenhimālo diferenciācijas spēju, tostarp spēju piemērotos apstākļos diferencēties muskuļiem līdzīgās šūnās. Tas padara Wilms1 par nenovērtējamu līdzekli mezenhimālās diferenciācijas molekulāro mehānismu un to deregulācijas Vilmsa audzēja patoģenēzes procesā izpētei.
Wilms1 ir izmantots arī, lai pētītu audzēja progresijā iesaistīto galveno signalizācijas ceļu aktivācijas statusu. Proteomiskās analīzes liecina, ka Wilms1 šūnās fosforilē un aktivizējas vairākas receptoru tirozīna kināzes, tostarp EGFR un PDGFRβ, kā arī pakārtotie MAPK signalizācijas ceļi. Šie atklājumi uzsver Wilms1 šūnu līnijas nozīmīgumu, pētot mērķtiecīgas terapeitiskās pieejas Wilms audzēja ārstēšanai, analizējot šo ceļu lomu vēža šūnu izdzīvošanā, proliferācijā un diferenciācijā.

Audums	Nieres

Pieteikumi

In vitro šūnu kultūras modelis. Bioķīmiskie pētījumi

Sinonīmi

- Wilms1-2l

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Vārpstas formas
Šūnu tips	Vilmsa šūnas
Tumorogēns	Jā, kailām pelēm. Veido audzēju ar mazām šūnām, kas atbilst Vilma audzējam (ksenogrāfti var pilnībā neatspoguļot Vilma audzējus, skatīt E. Kunce Stroup 2017)

Kariotips

46, normāli

Laiks, kas nepieciešams, lai skaits dubultojās	24 stundas

IDENTIFIKATORI

Atsauce

Wilms1 (Cytion kataloga numurs 300411)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SC

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Ekspresētie receptori

Receptoru tirozīna kināzes EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Mutāciju profils

WT1 mutācijas statuss: homozigotiska c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutācijas statuss: heterozigotiska TCT>TTT, p.S45F

Vīrusi

HIV-1: negatīvs, HBV: negatīvs, HCV: negatīvs

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

MSCGM komplekts (no Lonza)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.
Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Sēšanas blīvums	1 x 10^4 šūnas/cm^2
Šķidruma atjaunošana	1 līdz 2 reizes nedēļā
Atgūšanās pēc atkusņa	Fast

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	2 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	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