imWilms1

300412

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Wilms1 šūnu līnija sākotnēji tika iegūta no primārā Vilmsa audzēja, kas iegūts no pacienta, kuram diagnosticēti lieli abpusēji nieru audzēji, kas ir raksturīgs Vilmsa audzēja (nefroblastomas) izpausmes veids. Šai šūnu līnijai ir homozigotiska bezjēdzīga WT1 gēna mutācija (c.149 C>A, p.S50X), kas izraisa saīsināta, nefunkcionāla WT1 proteīna veidošanos. WT1 ir ļoti svarīgs gēns nieru attīstībā, un tā mutācija ir cieši saistīta ar Vilmsa audzēja patoģenēzi, jo īpaši audzējos, kam raksturīga stromas diferenciācija. Wilms1 šūnām ir stabils kariotips bez būtiskām hromosomālām anomālijām, un tām ir raksturīgs mezenhīma fenotips, kas izpaužas kā vimentīna ekspresija, bet nav epitēlija marķieru, piemēram, citokeratīna. Šai līnijai piemīt ierobežota, bet nozīmīga mezenhimālās diferenciācijas spēja, tostarp spēja noteiktos apstākļos diferencēties muskuļiem līdzīgās šūnās, kas padara to par svarīgu modeli WT1 mutāciju molekulāro seku izpētei.
Lai pārvarētu primāro Wilms1 šūnu ierobežoto dzīves ilgumu, tika izveidota imWilms1 šūnu līnija, ieviešot sākotnējās audzēja šūnās trīskāršu mutantu SV40 lielo T antigēnu (U19dl89-97tsA58), tādējādi veicinot to imortalizāciju. Šī modifikācija ļauj imWilms1 šūnām vairoties neierobežoti ilgi, vienlaikus saglabājot hromosomu stabilitāti, tādējādi piedāvājot uzticamu modeli ilgtermiņa pētījumiem. Imortalizētās imWilms1 šūnas turpina uzrādīt to pašu WT1 mutāciju un saglabā mezenhimālās īpašības, kādas piemīt vecākajai Wilms1 līnijai.
Papildus ģenētiskajām un fenotipiskajām īpašībām imWilms1 šūnu līnija ir plaši analizēta attiecībā uz tās signālu ceļu aktivitāti. Proteomikas pētījumi atklāja vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp EGFR, PDGFRβ un AXL, fosforilēšanu un aktivizēšanu ar pakārtotu MAPK signalizācijas ceļu aktivizēšanu. Šo ceļu konsekventa aktivizācija imWilms1 šūnās uzsver to nozīmi mērķtiecīgu Vilmsa audzēja terapeitisko stratēģiju izpētē. Kopumā imWilms1 kalpo par stabilu un ilgtermiņa modeli, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir Vilmsa audzēja attīstības un progresēšanas pamatā, jo īpaši tos, ko izraisa WT1 mutācijas un novirzes signalizācijas ceļos.

Audums	Nieres
Slimība	Vilmsa audzējs

Sinonīmi

- IM-WT-1

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

GMO-S1: This imWilms1 human Wilms tumor line contains a triple-mutant SV40 T-antigen cassette enabling conditional immortalization for nephroblastoma research. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Vārpstas formas
Šūnu tips	Vilmsa šūnas

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

IDENTIFIKATORI

Atsauce

imWilms1 (Cytion kataloga numurs 300412)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Mutāciju profils

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

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.

Šķidruma atjaunošana	1 līdz 2 reizes nedēļā

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	10 mēneši
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