Wilms2

300413

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

Wilms2-solulinja on peräisin primaarisesta Wilmsin kasvaimesta, joka on peräisin lapsipotilaalta, jolla on WT1-mutaatio. Tälle solulinjalle on ominaista homotsygoottinen nonsense-mutaatio WT1-geenissä (c.1084 C>T, p.R362X), joka johtaa typistetyn, ei-toiminnallisen WT1-proteiinin tuotantoon. Munuaisten kehitykselle välttämättömän WT1-geenin menetys on tunnusomaista tietyille Wilmsin kasvaimen alatyypeille, erityisesti niille, jotka liittyvät mesenkymaaliseen tai stroomaaliseen erilaistumiseen. Wilms2-solulinja on merkittävä malli WT1:n menetyksen aiheuttamien kasvainten syntyprosessien tutkimiseen, erityisesti sellaisten Wilms-kasvainten yhteydessä, joissa on jäljellä muita kriittisiä geneettisiä ominaisuuksia.
Wilms2-soluissa on mutaatioita myös CTNNB1-geenissä, joka koodaa β-kateniinia, joka on Wnt-signalointireitin keskeinen komponentti. Nämä mutaatiot, jotka vaikuttavat erityisesti seriini 45:een, johtavat β-kateniinin stabiloitumiseen ja kertymiseen, mikä johtaa Wnt-reitin konstitutiiviseen aktivoitumiseen. Tämä aktivaatio on tunnetusti Wilmsin kasvaimen solujen lisääntymisen ja kasvainten synnyn ajuri, minkä vuoksi Wilms2 on arvokas malli sen ymmärtämiseksi, miten poikkeava Wnt-signalointi vaikuttaa kasvainten kehittymiseen ja etenemiseen, joissa on WT1-mutaatioita.
Fenotyypiltään Wilms2:n solut ovat mesenkymaalisen morfologian kaltaisia, ne ilmentävät vimentiiniä ja niistä puuttuvat epiteelin merkkiaineet, kuten sytokeratiini. Tämä vastaa kasvaimen stroomaattisia ominaisuuksia ja korostaa WT1:n roolia mesenkymaalisen ja epiteelin välisten siirtymien säätelyssä munuaisten kehityksen aikana. Wilms2:n proteomianalyyseissä on havaittu useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten PDGFRβ:n ja AXL:n, aktivoituminen, joiden tiedetään tukevan kasvainsolujen selviytymistä ja lisääntymistä. Lisäksi myös MAPK:n ja PI3K/AKT:n kaltaiset jatkoketjureitit aktivoituvat, mikä edistää entisestään Wilms2-solujen pahanlaatuisia ominaisuuksia.
Kaiken kaikkiaan Wilms2-solulinja toimii olennaisena välineenä WT1:n menetyksen ja poikkeavan Wnt-signalisaation aiheuttaman Wilmsin kasvaimen molekyylimekanismien tutkimisessa. Sen geneettiset ja fenotyyppiset ominaisuudet tarjoavat vankan alustan mahdollisten terapeuttisten kohteiden tutkimiseen ja keskeisten signaalireittien roolin ymmärtämiseen sellaisten Wilmsin kasvainten patologiassa, joilla on mesenkymaalinen komponentti.

Kudos	Munuaiset
Sairaus	Wilmsin kasvain

Sovellukset

In vitro -soluviljelymalli. Biokemialliset tutkimukset

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Mies
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Karanmuotoinen
Solutyyppi	Wilmsin solut

TUNNISTEET

Lähdeviite

Wilms2 (Cytionin luettelonumero 300413)

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

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SE

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Mutaatioprofiili

WT1-mutaation status: homotsygoottinen c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutaation status: heterotsygoottinen del TCT>TAT, p.S45Y

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.

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.

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

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	1 vuosi
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

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