Wilms3

300414

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Wilms3 šūnu līnija tika izveidota no primārā Vilmsa audzēja, kas radies pediatriskai pacientei, kurai bija raksturīga somatiska WT1 mutācija. Atšķirībā no daudzām citām Vilmsa audzēja šūnu līnijām Wilms3 ir heterozigotiska WT1 gēna mutācija (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), kas izraisa saīsināta WT1 proteīna veidošanos. Šis daļējais WT1 funkcijas zudums ir saistīts ar audzēju attīstību, kam raksturīgs stromāls vai mezenhīma fenotips. Tomēr WT1 mutācija Wilms3 gadījumā nav homozigota, kas sarežģī tās izpēti, jo tā saglabā daļu WT1 funkcijas, kas var ietekmēt audzēja bioloģiju atšķirīgi salīdzinājumā ar šūnu līnijām ar pilnīgu WT1 zudumu.
Wilms3 ir arī mutācija CTNNB1 gēnā, kas īpaši ietekmē 41. treonīnu (p.T41A), kuram ir izšķiroša nozīme Wnt signalizācijas ceļā. Šī mutācija stabilizē β-Catenin, novēršot tā noārdīšanos un izraisot konstitīvu Wnt ceļa aktivizāciju. Pastāvīga Wnt signālu aktivizācija veicina šūnu proliferāciju un sekmē audzēju veidošanos Wilms3, padarot to par galveno modeli CTNNB1 mutāciju ietekmes izpētei daļēji funkcionālā WT1 fona kontekstā.
Fenotipiski Wilms3 šūnām piemīt mezenhimālai morfoloģijai līdzīga morfoloģija, tās ekspresē vimentīnu un tām trūkst citokeratīna, kas atbilst sākotnējā audzējā novērotajām stromas īpašībām. Šīm šūnām piemīt ierobežots diferenciācijas potenciāls, un īpašos apstākļos tās spēj daļēji mezenhimāli diferencēties. Wilms3 proteomikas analīzes atklāja vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp PDGFRβ un AXL, aktivizāciju, kas veicina šūnu izdzīvošanu un proliferāciju. Turklāt tiek aktivizēti tādi pakārtotie signalizācijas ceļi kā MAPK un PI3K/AKT, kas pastiprina Wilms3 šūnu ļaundabīgās īpašības.
Wilms3 unikāls aspekts ir tā daļējā WT1 funkcionalitāte, kas sniedz atšķirīgu skatījumu uz to, kā WT1 mutācijas veicina Wilms audzēja bioloģiju, ja mutācija nav pilnīga. WT1 un Wnt signālu mijiedarbība Wilms3 mutācijā sniedz vērtīgu iespēju pētīt niansētu lomu, kāda šiem ceļiem ir audzēja attīstībā. Kopumā Wilms3 kalpo kā svarīgs modelis, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir Vilmsa audzēja pamatā, ja ir daļējs WT1 zudums un konstitīva Wnt ceļa aktivācija.

Audums	Nieres
Slimība	Vilmsa audzējs

Pieteikumi

In vitro šūnu kultūras modelis. Bioķīmiskie pētījumi

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Vīrietis
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Vārpstas formas
Šūnu tips	Vilmsa šūnas

IDENTIFIKATORI

Atsauce

Wilms3 (Cytion kataloga numurs 300414)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606

Cellosaurus	CVCL_A5SF

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Mutāciju profils

WT1 mutācijas statuss: homozigotiska c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutācijas statuss: savvaļas tips

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.

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.

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

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	11-12 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