Wilms6

300415

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

Wilms6 rakuliin loodi Wilmsi primaarsest kasvajast pediaatrilisel patsiendil, kellel oli WT1 mutatsioon. See rakuliin on määratletud homosügootse nonsense-mutatsiooniga WT1 geenis (c.1168 C>T, p.R390X), mille tulemuseks on kärbitud ja mittefunktsionaalne WT1 valk. WT1 on neerude arengu kriitiline regulaator ja selle kadumine on tugevalt seotud Wilmsi kasvajaga, eriti juhul, kui esineb mesenhüümiline diferentseerumine. Wilms6 rakuliin on oluline mudel WT1 täieliku kadumise tumorigeensete mõjude uurimiseks, eriti selliste kasvajate puhul, millel on nii epiteliaalsed kui ka mesenhüümilised omadused.
Wilms6 rakud kannavad ka mutatsiooni CTNNB1 geenis, mis mõjutab konkreetselt seriini 45 (p.S45F), mis on β-kateniini lagunemist reguleeriva fosforüleerimise võtmekoht. See mutatsioon viib β-kateniini stabiliseerumiseni ja tuuma akumuleerumiseni, mille tulemuseks on Wnt-signaaltee konstitutiivne aktiveerimine. Wnt-signalisatsiooni kõrvalekalduv aktiveerimine on teadaolevalt Wilmsi kasvajate rakkude proliferatsiooni ja kasvajate tekke ajendiks, mistõttu Wilms6 on väärtuslik vahend WT1-mutatsiooniga kasvajate Wnt-tee düsregulatsiooni rolli uurimiseks.
Fenotüübiliselt on Wilms6 rakud mesenhüümilise morfoloogiaga, vimentiini tugeva ekspressiooniga ja epiteeli markerite, nagu tsütokeratiini, puudumisega, mis peegeldab algse kasvaja stromaalset olemust. On näidatud, et neil rakkudel on piiratud, kuid märkimisväärne diferentseerumispotentsiaal, sealhulgas võime diferentseeruda eritingimustes lihasarnasteks rakkudeks, mis peegeldab mõnes Wilmsi kasvajas täheldatud mesenhüümset diferentseerumist. Wilmsi6 proteoomilised uuringud on tuvastanud mitmete retseptori türosiini kinaaside (RTK), sealhulgas PDGFRβ ja AXL aktiveerimise, mis on seotud rakkude ellujäämise, proliferatsiooni ja migratsiooni edendamisega. Selliste signaaliradade nagu MAPK ja PI3K/AKT allavoolu aktiveerimine rõhutab veelgi selle rakuliini agressiivsust.
Üldiselt on Wilms6 rakuliin oluline mudel Wilmsi kasvajate arengu aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks, eriti juhul, kui WT1 on täielikult kadunud koos Wnt-signaalide aktiveerimisega. Selle geneetilised ja fenotüüpilised omadused teevad sellest suurepärase platvormi WT1 puuduse ja kõrvalekalduvate signaaliradade vahelise koostoime uurimiseks, mis annab ülevaate selle agressiivse kasvajatüübi potentsiaalsetest terapeutilistest sihtmärkidest.

Kude	Neerud
Haigus	Wilmsi kasvaja

Rakendused

In vitro rakukultuuri mudel. Biokeemilised uuringud

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Mees
Kasvuvõime	Järgija
Bioloogilise ohutuse tase	1

OMADUSED

Morfoloogia	Spindlikujuline
Rakutüüp	Wilmsi rakud

TUNNUSED

Viide

Wilms6 (Cytioni kataloginumber 300415)

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 maksukood	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SI

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Mutatsiooniprofiil

WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatsiooni staatus: homosügootne del TCT, p.DS45

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

MSCGM komplekt (Lonza)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.
Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Sulatamine ja kasvatamine

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.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	15 kuud
Etniline kuuluvus	Kaukaasia

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""'x-default"">Tagatise avaldusest

Vajalik on materjalide üleandmise leping	Yes