Wilms6

300415

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Wilms6 šūnu līnija tika izveidota no primārā Wilms audzēja pediatriska pacienta ar WT1 mutāciju. Šai šūnu līnijai ir homozigotiska nonsensa mutācija WT1 gēnā (c.1168 C>T, p.R390X), kas izraisa saīsinātu un nefunkcionālu WT1 proteīnu. WT1 ir kritiski svarīgs nieru attīstības regulators, un tā zudums ir cieši saistīts ar Vilmsa audzēju, jo īpaši gadījumos, kad vēzis ir mezenhimatiski diferencēts. Wilms6 šūnu līnija ir svarīgs modelis, lai pētītu pilnīgas WT1 zaudēšanas ietekmi uz audzēju, jo īpaši saistībā ar audzējiem, kam piemīt gan epitēlija, gan mezenhīma īpašības.
Wilms6 šūnām ir arī mutācija CTNNB1 gēnā, kas īpaši ietekmē 45. serīnu (p.S45F) - galveno fosforilēšanas vietu, kas regulē β-Catenin degradāciju. Šī mutācija izraisa β-Catenin stabilizāciju un kodolu akumulāciju, kā rezultātā konstitīvi aktivizējas Wnt signalizācijas ceļš. Zināms, ka Wnt signalizācijas aberantā aktivizācija ir Vilmsa audzēju šūnu proliferācijas un audzēja rašanās virzītājspēks, tāpēc Wilms6 ir vērtīgs instruments, lai pētītu Wnt ceļa disregulācijas lomu audzējos ar WT1 mutācijām.
Fenotipiski Wilms6 šūnām ir mezenhimāla morfoloģija ar spēcīgu vimentīna ekspresiju un tādu epitēlija marķieru kā citokeratīna trūkumu, kas atspoguļo sākotnējā audzēja stromālo raksturu. Šīm šūnām piemīt ierobežots, bet ievērojams diferenciācijas potenciāls, tostarp spēja īpašos apstākļos diferencēties par muskuļiem līdzīgām šūnām, kas atspoguļo mezenhimālo diferenciāciju, kas novērota dažos Vilmsa audzējos.
Vilmsa audzēju proteomikas pētījumos6 ir konstatēta vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp PDGFRβ un AXL, aktivācija, kas veicina šūnu izdzīvošanu, proliferāciju un migrāciju. Pakārtotā signalizācijas ceļu, piemēram, MAPK un PI3K/AKT, aktivizācija vēl vairāk uzsver šīs šūnu līnijas agresīvo raksturu.
Kopumā Wilms6 šūnu līnija kalpo kā būtisks modelis, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir Vilmsa audzēja attīstības pamatā, jo īpaši gadījumos, kad ir pilnīgs WT1 zudums apvienojumā ar Wnt signālu aktivizāciju. Tās ģenētiskās un fenotipiskās īpašības padara to par lielisku platformu, lai pētītu mijiedarbību starp WT1 deficītu un aberantiem signālu ceļiem, sniedzot ieskatu potenciālajos terapeitiskajos mērķos šī agresīvā audzēja tipa ārstēšanā.

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

Wilms6 (Cytion kataloga numurs 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 nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SI

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Mutāciju profils

WT1 mutācijas statuss: homozigotiska c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutācijas statuss: homozigotiska del TCT, p.DS45

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	15 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