Wilms8

300416

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

Wilms8 rakuliin on saadud Wilmsi primaarsest Wilmsi kasvajast, mis pärineb WT1 mutatsiooniga pediaatrilisest patsiendist. Seda rakuliini iseloomustab homosügootne nonsense-mutatsioon WT1 geenis (c.1168 C>T, p.R390X), mis põhjustab WT1 funktsiooni täieliku kadumise. WT1 on neerude normaalseks arenguks hädavajalik ja selle inaktiveerimine on levinud Wilmsi kasvaja teatud agressiivsete alatüüpide puhul, eriti nende puhul, millel on mesenhüümiline diferentseerumine. Wilms8 on seega väärtuslik mudel WT1 kaotuse mõju uurimiseks kasvajate tekkimisele, eriti selliste Wilmsi kasvajate puhul, mis tekivad tugeva stromaalse komponendiga.
Lisaks WT1 mutatsioonile on Wilms8 rakkudes mutatsioon CTNNB1 geenis (p.S45A), mis kodeerib β-kateniini, mis on Wnt-signaaltee peamine regulaator. Mutatsioon seriini 45 juures häirib normaalset fosforüleerimisprotsessi, mis viib β-kateniini lagunemiseni, põhjustades selle stabiliseerumist ja akumuleerumist tuumas. Selle tulemuseks on Wnt-signalisatsiooni konstitutiivne aktiveerimine, mis juhib rakkude proliferatsiooni ja aitab kaasa Wilms8 rakuliini onkogeensetele omadustele. WT1 kaotuse ja Wnt-signalisatsiooni hälbimise vastastikune mõju Wilms8-s muudab selle oluliseks mudeliks, et mõista nende radade aluseks olevaid molekulaarseid mehhanisme Wilmsi kasvaja bioloogias.
Wilms8 rakkudel on mesenhüümiline fenotüüp, mida iseloomustab vimentiini ekspressioon ja epiteeli markerite, näiteks tsütokeratiini puudumine. See on kooskõlas algses kasvajas täheldatud stromaalse diferentseerumisega. Need rakud näitavad piiratud võimet edasiseks mesenhüümiliseks diferentseerumiseks, nagu näiteks lihasarnaste rakkude moodustamine spetsiifilistes tingimustes. Wilms8 proteoomilised analüüsid on näidanud mitmete retseptori türosiini kinaaside (RTK), sealhulgas PDGFRβ ja AXL aktiveerimist, mis osalevad sellistes olulistes protsessides nagu rakkude ellujäämine, migratsioon ja proliferatsioon. Wilms8 rakkude agressiivsetele omadustele aitab lisaks kaasa allavoolu signaaliradade, eelkõige MAPK ja PI3K/AKT radade aktiveerimine.
Kokkuvõttes on Wilms8 rakuliin oluline vahend Wilmsi tuumori molekulaarse aluse uurimiseks, mis on tingitud WT1 kaotusest ja Wnt-signalisatsiooni kõrvalekaldumisest. Selle geneetilised ja fenotüüpilised omadused teevad sellest tugeva platvormi nende kriitiliste radade vahelise koostoime uurimiseks ja võimalike terapeutiliste sihtmärkide tuvastamiseks Wilmsi kasvajate puhul, millel on stromaalne komponent.

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

Wilms8 (Cytioni kataloginumber 300416)

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_A5SJ

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Mutatsiooniprofiil

WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1 mutatsiooni staatus: heterosügootne TCT>GCT, p.S45A

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	8 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