Wilms8

300416

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

Wilms8-solulinja on peräisin primaarisesta Wilmsin kasvaimesta, joka on peräisin lapsipotilaalta, jolla on WT1-mutaatio. Tälle solulinjalle on ominaista homotsygoottinen nonsense-mutaatio WT1-geenissä (c.1168 C>T, p.R390X), joka johtaa WT1:n toiminnan täydelliseen menetykseen. WT1 on ratkaisevan tärkeä munuaisten normaalin kehityksen kannalta, ja sen inaktivoituminen on yleinen piirre tietyissä Wilmsin kasvaimen aggressiivisissa alatyypeissä, erityisesti niissä, joissa esiintyy mesenkymaalista erilaistumista. Wilms8 tarjoaa näin ollen arvokkaan mallin, jonka avulla voidaan tutkia WT1:n menetyksen vaikutuksia kasvainten syntyyn, erityisesti sellaisten Wilms-kasvainten yhteydessä, joissa on voimakas stroomakomponentti.
WT1-mutaation lisäksi Wilms8-soluissa on mutaatio CTNNB1-geenissä (p.S45A), joka koodaa β-kateniinia, joka on keskeinen Wnt-signalointireitin säätelijä. Mutaatio seriini 45:ssä häiritsee normaalia fosforylaatioprosessia, joka johtaa β-kateniinin hajoamiseen, ja aiheuttaa sen stabiloitumisen ja kertymisen tumaan. Tämä johtaa Wnt-signaalin konstitutiiviseen aktivoitumiseen, mikä edistää solujen lisääntymistä ja vaikuttaa osaltaan Wilms8-solulinjan onkogeenisiin ominaisuuksiin. WT1:n menetyksen ja poikkeavan Wnt-signalisaation välinen vuorovaikutus Wilms8:ssa tekee siitä ratkaisevan tärkeän mallin näiden reittien taustalla olevien molekyylimekanismien ymmärtämiseksi Wilmsin kasvainten biologiassa.
Wilms8-soluilla on mesenkymaalinen fenotyyppi, jolle on ominaista vimentiinin ilmentyminen ja epiteelin merkkiaineiden, kuten sytokeratiinin, puuttuminen. Tämä vastaa alkuperäisessä kasvaimessa havaittua stroomaalista erilaistumista. Solut osoittavat rajoitettua kykyä edetä mesenkimaalisessa erilaistumisessa, kuten muodostaa lihaksen kaltaisia soluja tietyissä olosuhteissa. Wilms8:n proteomianalyysit ovat paljastaneet useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten PDGFRβ:n ja AXL:n, aktivoituneen, ja ne osallistuvat keskeisiin prosesseihin, kuten solujen eloonjäämiseen, migraatioon ja proliferaatioon. Seuraavien signaalireittien, erityisesti MAPK- ja PI3K/AKT-reittien, aktivoituminen vaikuttaa edelleen Wilms8-solujen aggressiivisiin ominaisuuksiin.
Kaiken kaikkiaan Wilms8-solulinja toimii olennaisena välineenä WT1:n menetyksen ja poikkeavan Wnt-signalisaation aiheuttaman Wilms-kasvaimen molekulaarisen perustan tutkimisessa. Sen geneettiset ja fenotyyppiset ominaisuudet tekevät siitä vankan alustan näiden kriittisten reittien välisen vuorovaikutuksen tutkimiseen ja mahdollisten terapeuttisten kohteiden tunnistamiseen Wilmsin kasvaimissa, joissa on stroomakomponentti.

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

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

TUNNISTEET

Lähdeviite

Wilms8 (Cytionin luettelonumero 300416)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Mutaatioprofiili

WT1-mutaation tila: homotsygoottinen c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1-mutaation tila: heterotsygoottinen TCT>GCT, p.S45A

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.

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	8 kuukautta
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