Wilms8

300416

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

Wilms8 ląstelių linija buvo gauta iš pirminio Vilmso naviko, kuris buvo diagnozuotas vaikui, sergančiam WT1 mutacija. Šiai ląstelių linijai būdinga homozigotinė nonsenso mutacija WT1 gene (c.1168 C>T, p.R390X), dėl kurios visiškai prarandama WT1 funkcija. WT1 yra labai svarbus normaliam inkstų vystymuisi, o jo inaktyvacija yra būdinga tam tikriems agresyviems Vilmso naviko potipiams, ypač tiems, kuriems būdinga mezenchiminė diferenciacija. Todėl Wilms8 yra vertingas modelis, kuriuo galima tirti WT1 praradimo poveikį naviko genezei, ypač atsižvelgiant į Wilms navikus, kurie atsiranda su ryškiu stromos komponentu.
Be WT1 mutacijos, Wilms8 ląstelėse yra CTNNB1 geno mutacija (p.S45A), kuri koduoja β-kateniną, pagrindinį Wnt signalinio kelio reguliatorių. Mutacija ties 45 serinu sutrikdo įprastą fosforilinimo procesą, dėl kurio β-Cateninas skaidomas, todėl jis stabilizuojasi ir kaupiasi branduolyje. Dėl to konstituciškai aktyvuojamas Wnt signalas, kuris skatina ląstelių proliferaciją ir prisideda prie Wilms8 ląstelių linijos onkogeninių savybių. Dėl WT1 praradimo ir aberantinio Wnt signalo sąveikos Wilms8 yra labai svarbus modelis, padedantis suprasti molekulinius mechanizmus, kuriais grindžiami šie Wilms naviko biologijos keliai.
Wilms8 ląstelėms būdingas mezenchiminis fenotipas, kuriam būdinga vimentino raiška ir epitelio žymenų, tokių kaip citokeratinas, nebuvimas. Tai atitinka pirminiame navike stebėtą stromos diferenciaciją. Ląstelės pasižymi ribotu gebėjimu toliau mezenchimiškai diferencijuotis, pavyzdžiui, tam tikromis sąlygomis formuoti į raumenis panašias ląsteles. Atlikus Vilmso8 proteominę analizę, nustatyta, kad aktyvuotos kelios receptorių tirozino kinazės (RTK), įskaitant PDGFRβ ir AXL, kurios dalyvauja tokiuose svarbiuose procesuose kaip ląstelių išlikimas, migracija ir proliferacija. Tolesnių signalinių kelių, ypač MAPK ir PI3K/AKT kelių, aktyvinimas dar labiau prisideda prie agresyvių Wilms8 ląstelių savybių.
Apskritai Wilms8 ląstelių linija yra labai svarbi priemonė tiriant Wilms naviko, kurį lemia WT1 praradimas ir pakitęs Wnt signalas, molekulinius pagrindus. Dėl jos genetinių ir fenotipinių savybių ji yra patikima platforma šių svarbių kelių sąveikai tirti ir galimiems Vilmso navikų, turinčių stromos komponentą, gydymo taikiniams nustatyti.

Audinys	Inkstai
Liga	Vilmso navikas

Paraiškos

In vitro ląstelių kultūros modelis. Biocheminiai tyrimai

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Vyras
Augimo savybės	Prisijungęs
Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Verpstės formos
Ląstelių tipas	Vilmso ląstelės

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

Wilms8 (Cytion katalogo numeris 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 mokesčių identifikavimo kodas	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Mutacijų profilis

WT1 mutacijos būklė: homozigotinė c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1 mutacijos būklė: heterozigotinė TCT>GCT, p.S45A

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

MSCGM rinkinys (iš "Lonza")

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.
Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	8 mėnesiai
Etninė priklausomybė	Kaukaziečių

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Reikalinga medžiagų perdavimo sutartis	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