Wilms8

300416

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Wilms8 šūnu līnija tika iegūta no primārā Wilms audzēja pediatriska pacienta ar iegremdētu WT1 mutāciju. Šai šūnu līnijai ir raksturīga homozigotiska bezjēdzīga WT1 gēna mutācija (c.1168 C>T, p.R390X), kas izraisa pilnīgu WT1 funkcijas zudumu. WT1 ir ļoti svarīgs normālai nieru attīstībai, un tā inaktivācija ir raksturīga dažiem agresīviem Vilmsa audzēju apakštipiem, jo īpaši tiem, kuriem ir mezenhimāla diferenciācija. Tāpēc Wilms8 ir vērtīgs modelis, lai pētītu WT1 zuduma ietekmi uz audzēju ģenēzi, jo īpaši saistībā ar Wilms audzējiem, kas veidojas ar izteiktu stromālo komponentu.
Papildus WT1 mutācijai Wilms8 šūnās ir mutācija CTNNB1 gēnā (p.S45A), kas kodē β-katenīnu, galveno Wnt signalizācijas ceļa regulatoru. Mutācija pie serīna 45 pārtrauc normālu fosforilēšanas procesu, kas izraisa β-Catenin degradāciju, izraisot tā stabilizāciju un uzkrāšanos kodolā. Tas izraisa konstitīvu Wnt signalizācijas aktivizāciju, kas veicina šūnu proliferāciju un sekmē Wilms8 šūnu līnijas onkogēnās īpašības. Savstarpējā mijiedarbība starp WT1 zudumu un aberantu Wnt signalizāciju Wilms8 līnijā padara to par būtisku modeli, lai izprastu molekulāros mehānismus, kas ir šo ceļu pamatā Wilms audzēju bioloģijā.
Wilms8 šūnām ir mezenhīma fenotips, ko raksturo vimentīna ekspresija un epitēlija marķieru, piemēram, citokeratīna, neesamība. Tas atbilst sākotnējā audzējā novērotajai stromālajai diferenciācijai. Šīm šūnām ir ierobežota spēja turpināt mezenhimālo diferenciāciju, piemēram, veidojot muskuļiem līdzīgas šūnas īpašos apstākļos. Wilms8 proteomikas analīzes ir atklājušas vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp PDGFRβ un AXL, aktivizāciju, kas ir iesaistītas tādos svarīgos procesos kā šūnu izdzīvošana, migrācija un proliferācija. Pakārtoto signalizācijas ceļu, jo īpaši MAPK un PI3K/AKT ceļu, aktivizācija vēl vairāk veicina Wilms8 šūnu agresīvās īpašības.
Kopumā Wilms8 šūnu līnija kalpo kā būtisks rīks, lai pētītu molekulāro pamatu Wilms audzējiem, ko izraisa WT1 zudums un aberatīva Wnt signalizācija. Tās ģenētiskās un fenotipiskās īpašības padara to par stabilu platformu, lai pētītu mijiedarbību starp šiem svarīgajiem ceļiem un identificētu potenciālos terapeitiskos mērķus Vilmsa audzējiem ar stromālo komponentu.

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

Wilms8 (Cytion kataloga numurs 300416)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606

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

Cellosaurus	CVCL_A5SJ

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Mutāciju profils

WT1 mutācijas statuss: homozigotiska c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1 mutācijas statuss: heterozigotiska TCT>GCT, p.S45A

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.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	8 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