Wilms10T

300417

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

Wilms10T-solulinja on peräisin Wilmsin kasvaimen primaarinäytteestä, joka on saatu potilaalta, jolla on Wilmsin kasvain, pediatrinen nefroblastooma. Tälle solulinjalle on ominaista WT1-geenin homotsygoottinen deleetio, joka johtaa WT1:n toiminnan täydelliseen katoamiseen. WT1 on kriittinen geeni, joka osallistuu munuaisten kehitykseen ja munuaisten normaalin erilaistumisen ylläpitämiseen. Toisin kuin monissa muissa Wilmsin kasvainsolulinjoissa, Wilms10T:stä puuttuu WT1-proteiinin ilmentyminen, mikä kuvastaa tässä kasvaimen alatyypissä esiintyviä vakavia geneettisiä muutoksia. Lisäksi Wilms10T-solulinjassa esiintyy heterotsygotian menetystä (LOH) kromosomialueella 11p15, joka sisältää tärkeitä geenejä, kuten IGF2, mikä osaltaan lisää sen kasvainogeenisia ominaisuuksia. Wilms10T-soluilla on vakaa normaali karyotyyppi, jossa ei ole merkittäviä kromosomien uudelleenjärjestelyjä lukuun ottamatta WT1-alueen spesifistä deletoitumista. Tätä solulinjaa on käytetty laajasti tutkimaan täydellisen WT1:n menetyksen vaikutuksia kasvaimen biologiaan, mukaan lukien sen vaikutus solujen proliferaatioon, erilaistumiseen ja vasteeseen erilaisille signaalireiteille. Solut säilyttävät mesenkymaaliset piirteet ja ilmentävät merkkiaineita, kuten vimentiiniä, mutta niistä puuttuvat epiteelimerkkiaineet, kuten sytokeratiini, mikä viittaa niiden stroomaperäisyyteen.
Merkittävässä tutkimuksessa on keskitytty Wilms10T-solujen aktiivisiin signaalireitteihin. Proteomitutkimukset ovat osoittaneet, että näissä soluissa aktivoituu useita reseptorityrosiinikinaaseja (RTK), kuten IGF1R, PDGFRβ ja AXL, joiden tiedetään ohjaavan kasvainten syntyä. Lisäksi Wilms10T-soluissa aktivoituvat myöhemmät signaalireitit, kuten MAPK- ja PI3K/AKT-reitit, jotka vaikuttavat niiden aggressiiviseen kasvainfenotyyppiin. Wilms10T:n kattava karakterisointi tekee siitä arvokkaan mallin, jonka avulla voidaan tutkia Wilmsin kasvaimen molekulaarisia taustatekijöitä, kun WT1 menetetään kokonaan, sekä tutkia mahdollisia terapeuttisia kohteita tässä aggressiivisessa kasvaimen alatyypissä.

Kudos	Munuaiset
Sairaus	Wilmsin kasvain

Sovellukset

In vitro -soluviljelymalli ja biokemialliset tutkimukset

Synonyymit

- Wilms10

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Karanmuotoinen
Solutyyppi	Wilmsin solut
Kaksinkertaistumisaika	46 tuntia

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

Wilms10T (Cytionin luettelonumero 300417)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SL

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Mutaatioprofiili

WT1-mutaatiotilanne: homotsygoottinen del WT1 del11p13:ssa. LOH: ei 11p13:ssa, mutta UPD 11p15:ssä. CTNNB1-mutaatiotilanne: homotsygoottinen del TCT, p.DS45, UPD 3p

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.

Kylvötiheys	4 x 10^4 solua/cm^2
Nesteen uusiminen	1-2 kertaa viikossa

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	2 vuotta
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