ImWilms10T

300419

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

ImWilms10T šūnu līnija ir Wilms10T primārās audzēja šūnu līnijas imortizēts variants, kas iegūts no Wilms audzēja (nefroblastomas) parauga pediatriskā pacienta organismā. Šī šūnu līnija atšķiras ar homozigotisku WT1 gēna deleciju, kā rezultātā pilnībā tiek zaudēta WT1 proteīna funkcija. WT1 ir svarīgs gēns nieru attīstībai, un tā izdzēšana imWilms10T atspoguļo nopietnu ģenētisku traucējumu, kas saistīts ar Vilmsa audzēja patoģenēzi. Papildus WT1 delecijai imWilms10T šūnām ir arī heterozigotozitātes zudums (LOH) 11p15 hromosomu apgabalā, kurā ietilpst tādi svarīgi gēni kā IGF2, kas veicina audzēja agresīvu uzvedību.
Lai pārvarētu Wilms10T šūnu ierobežoto dzīves ilgumu, tika izveidota imWilms10T šūnu līnija, ieviešot sākotnējās audzēja šūnās trīskāršu mutantu SV40 lielo T antigēnu (U19dl89-97tsA58). Šis imortalizācijas process ļauj imWilms10T šūnām vairoties neierobežoti ilgi, vienlaikus saglabājot hromosomu stabilitāti, tādējādi nodrošinot uzticamu modeli ilgtermiņa pētījumiem. ImWilms10T šūnas saglabā vecāku Wilms10T līnijas kritiskās īpašības, tostarp pilnīgu WT1 zudumu un LOH klātbūtni 11p15, padarot tās par nenovērtējamu resursu WT1 delecijas un ar to saistīto audzēja veidošanās procesu molekulāro seku pētīšanai.
imWilms10T šūnas ir plaši pētītas saistībā ar to iesaistīšanos galvenajos signālu ceļos, kas veicina audzēju progresēšanu. Proteomiskās analīzes ir atklājušas, ka šajās šūnās fosforilē un aktivizējas vairākas receptoru tirozīna kināzes (RTK), piemēram, IGF1R, PDGFRβ un AXL. Šie aktivizētie receptori signalizē caur pakārtotajiem ceļiem, tostarp MAPK un PI3K/AKT ceļiem, kas ir būtiski šūnu ļaundabīgā fenotipa uzturēšanai. ImWilms10T šūnu līnija kalpo kā svarīgs instruments, lai pētītu pilnīgu WT1 zuduma ietekmi uz šūnu signalizāciju, audzēja augšanu un potenciālajiem terapeitiskajiem mērķiem Vilmsa audzēja gadījumā, jo īpaši agresīvāku audzēju apakštipu gadījumā.

Audums	Nieres
Slimība	Vilmsa audzējs

Sinonīmi

- ImWilms10 T
- IM-WT-10

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

GMO-S1: This imWilms10T derivative contains the same triple-mutant SV40 T-antigen enabling conditional immortalization for pediatric kidney tumor biology. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Vārpstas formas
Šūnu tips	Vilmsa šūnas

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

IDENTIFIKATORI

Atsauce

ImWilms10T (Cytion kataloga numurs 300419)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_DF34

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Mutāciju profils

WT1 mutācijas statuss: homozigotiska del WT1 del11p13, LOH: nav 11p13, bet UPD 11p15, CTNNB1 mutācijas statuss: homozigotiska del TCT, p.DS45, UPD 3p

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.

Šķidruma atjaunošana	1 līdz 2 reizes nedēļā

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	2 gadi
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