Wilms11

300420

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Wilms11 šūnu līnija tika iegūta no primārā Wilms audzēja (nefroblastomas) pediatriskā pacientā. Atšķirībā no daudzām citām Vilmsa audzēja šūnu līnijām Wilms11 ir raksturīga savvaļas tipa WT1 klātbūtne, t. i., tajā nav WT1 gēna mutāciju, kas parasti ir saistītas ar agresīvākiem vai stromas fenotipiem raksturīgiem Vilmsa audzējiem. Tomēr Wilms11 audzējs uzrādīja ievērojamu stromālo diferenciāciju ar lieliem rabdomiomatozas diferenciācijas apgabaliem, kas liecina par mezenhimāliem elementiem audzējā. Savvaļas tipa WT1 klātbūtne kopā ar audzēja stromālo diferenciāciju nodrošina unikālu modeli, lai izprastu Vilmsa audzēja bioloģiju gadījumos, kad WT1 mutācijas nav konstatētas.
Wilms11 ģenētiskie pētījumi liecina, ka šai šūnu līnijai ir audzējam raksturīga mutācija CTNNB1 gēnā, kas kodē β-katenīnu, kuram ir izšķiroša nozīme Wnt signalizācijas ceļā. Wilms11 gadījumā šī mutācija ietekmē 45. serīnu, kas ir galvenā fosforilēšanas vieta β-Catenin noārdīšanās procesā. CTNNB1 mutācijas rezultātā β-Catenin stabilizējas, kā rezultātā tas uzkrājas un konstitīvi aktivizējas Wnt signalizācijas ceļš, kas ir šūnu proliferācijas un audzēju rašanās virzītājspēks. Tas padara Wilms11 par svarīgu modeli, lai pētītu mijiedarbību starp Wnt signalizāciju un Wilms audzēja attīstību, īpaši gadījumos, kad WT1 paliek neskarts.
Wilms11 proteomikas analīzes ir atklājušas vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp PDGFRβ un AXL, aktivizāciju, kas veicina audzēja šūnu augšanu un izdzīvošanu. Wilms11 šūnās ir aktivizēti arī tādi pakārtotie signalizācijas ceļi kā MAPK un PI3K/AKT ceļi, kas veicina to audzēja uzvedību. Wilms11 šūnu spēja veikt mezenhimālo diferenciāciju, jo īpaši rabdomiomatozo diferenciāciju, izceļ to potenciālu kā modeļa Vilmsa audzēja mezenhimālo komponentu izpētei. Kopumā Wilms11 kalpo kā vērtīgs instruments, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas nosaka Wilms audzēju rašanos, ja nav WT1 mutāciju, bet Wnt ceļa aktivizācijas kontekstā.

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

Wilms11 (Cytion kataloga numurs 300420)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SM

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

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Mutāciju profils

WT1 mutācijas stāvoklis: homozigotiska WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1 mutācijas statuss: savvaļas tips

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	22 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