Wilms1

300411

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa Wilms1 została uzyskana z pierwotnej próbki guza Wilmsa uzyskanej od pacjenta z dużymi obustronnymi guzami nerek, wskazującymi na guz Wilmsa, nefroblastomę dziecięcą. Ta linia komórkowa jest nosicielem homozygotycznej mutacji nonsensownej w genie WT1 (c.149 C>A, p.S50X), która skutkuje skróconym i niefunkcjonalnym białkiem WT1. Gen WT1, krytyczny dla rozwoju i funkcji nerek, jest często mutowany w guzach Wilmsa, szczególnie w tych z podtypem zrębu, który wykazuje ektopowe różnicowanie mezenchymalne. Komórki Wilms1 stanowią zatem unikalny model in vitro do badania konsekwencji utraty funkcji WT1 w biologii nowotworów.
Linia komórkowa Wilms1 utrzymuje stabilny kariotyp bez znaczących nieprawidłowości chromosomalnych, co pozwala na niezawodną długoterminową hodowlę. Komórki te wykazują fenotyp mezenchymalny, charakteryzujący się ekspresją wimentyny i brakiem markerów nabłonkowych, takich jak cytokeratyna, co jest zgodne z ich zrębowym pochodzeniem. Dodatkowo, linia komórkowa wykazuje ograniczoną, ale znaczącą zdolność różnicowania mezenchymalnego, w tym zdolność do różnicowania się w komórki mięśniopodobne w odpowiednich warunkach. To sprawia, że Wilms1 jest nieocenionym narzędziem do badania molekularnych mechanizmów różnicowania mezenchymalnego i jego deregulacji w patogenezie guza Wilmsa.
Wilms1 został również wykorzystany do badania stanu aktywacji kluczowych szlaków sygnałowych zaangażowanych w progresję nowotworu. Analizy proteomiczne wykazały, że komórki Wilms1 wykazują fosforylację i aktywację kilku receptorowych kinaz tyrozynowych, w tym EGFR i PDGFRβ, a także dalszych szlaków sygnałowych MAPK. Odkrycia te podkreślają znaczenie linii komórkowej Wilms1 w badaniu ukierunkowanych podejść terapeutycznych do guza Wilmsa poprzez analizę roli tych szlaków w przeżyciu, proliferacji i różnicowaniu komórek nowotworowych.

Chusteczka	Nerka

Zastosowania

Model hodowli komórkowej in vitro. Badania biochemiczne

Synonimy

- Wilms1-2l

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Wrzecionowaty kształt
Typ komórki	Komórki Wilmsa
Nowotworotwórczy	Tak, u nagich myszy. Tworzy guza z małymi komórkami zgodnymi z guzem Wilmsa (ksenografty mogą nie reprezentować całkowicie guzów Wilmsa, patrz E. Kunce Stroup 2017)

Karyotyp

46, normalny

Czas podwojenia	24 godziny

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

IDENTYFIKATORY

Źródło

Wilms1 (numer katalogowy Cytion 300411)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SC

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Receptory ulegające ekspresji

Receptorowe kinazy tyrozynowe EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Profil mutacji

Status mutacji WT1: homozygotyczny c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, status mutacji CTNNB1: heterozygotyczny TCT>TTT, p.S45F

Wirusy

HIV-1: negatywny, HBV: negatywny, HCV: negatywny

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

Zestaw MSCGM (od Lonza)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.
Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Gęstość wysiewu	1 x 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	1 do 2 razy w tygodniu
Powrót do stanu sprzed rozmrożenia	Szybko

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	2 lata
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes