Wilms1

300411

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celična linija Wilms1 je bila pridobljena iz vzorca primarnega Wilmsovega tumorja, pridobljenega od bolnika z velikimi obojestranskimi ledvičnimi tumorji, ki kažejo na Wilmsov tumor, pediatrični nefroblastom. Ta celična linija ima homozigotno nesmiselno mutacijo v genu WT1 (c.149 C>A, p.S50X), ki povzroča skrajšano in nefunkcionalno beljakovino WT1. Gen WT1, ki je ključen za razvoj in delovanje ledvic, je pogosto mutiran pri Wilmsovem tumorju, zlasti pri tumorjih s stromalnim podtipom, ki ima ektopično mezenhimsko diferenciacijo. Celice Wilms1 zato predstavljajo edinstven in vitro model za preučevanje posledic izgube funkcije WT1 v biologiji tumorjev.
Celična linija Wilms1 ohranja stabilen kariotip brez pomembnih kromosomskih nepravilnosti, kar omogoča zanesljivo dolgoročno gojenje. Te celice imajo mezenhimski fenotip, za katerega je značilno izražanje vimentina in odsotnost epitelijskih označevalcev, kot je citokeratin, kar je skladno z njihovim stromalnim izvorom. Poleg tega celična linija izkazuje omejeno, vendar opazno sposobnost mezenhimske diferenciacije, vključno s sposobnostjo diferenciacije v mišične celice pod ustreznimi pogoji. Zaradi tega je Wilms1 neprecenljivo orodje za raziskovanje molekularnih mehanizmov mezenhimske diferenciacije in njene deregulacije v patogenezi Wilmsovega tumorja.
Wilms1 se uporablja tudi za preučevanje stanja aktivacije ključnih signalnih poti, ki sodelujejo pri napredovanju tumorjev. Proteomske analize so pokazale, da celice Wilms1 kažejo fosforilacijo in aktivacijo več receptorskih tirozinskih kinaz, vključno z EGFR in PDGFRβ, ter signalne poti MAPK, ki so v nadaljevanju verige. Te ugotovitve poudarjajo pomen celične linije Wilms1 pri raziskovanju ciljno usmerjenih terapevtskih pristopov za tumor Wilms, in sicer z ugotavljanjem vloge teh poti pri preživetju, proliferaciji in diferenciaciji rakavih celic.

Tkivo	Ledvice

Uporaba

In vitro model celične kulture. Biokemične študije

Sinonimi

- Wilms1-2l

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Ženska
Lastnosti rasti	Pripadnik
Stopnja biološke varnosti	1

ZNAČILNOSTI

Morfologija	Vretenasta oblika
Vrsta celice	Wilmsove celice
Tumorigeničen	Da, na golih miših. Oblikuje tumor z majhnimi celicami, ki ustreza Wilmsovemu tumorju (ksenografti morda ne predstavljajo v celoti Wilmsovih tumorjev, glej E. Kunce Stroup 2017)

Kariotip

46, normalno

Čas podvojitve	24 ur

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

Wilms1 (kataloška številka Cytion 300411)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SC

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Izraženi receptorji

Receptorske tirozinske kinaze EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Profil mutacij

Status mutacije WT1: homozigotna c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, status mutacije CTNNB1: heterozigotna TCT>TTT, p.S45F

Virusi

HIV-1: negativen, HBV: negativen, HCV: negativen

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

Komplet MSCGM (Lonza)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.
Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Gostota setve	1 x 10^4 celic/cm^2
Obnova tekočine	1 do 2-krat na teden
Obnova po odtaljevanju	Hitro

Odtaljevanje in gojenje

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.

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

KONTROLA KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.
Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	2 leti
Etnična pripadnost	Kavkaški

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Potreben je sporazum o prenosu materiala	Yes