imWilms1

300412

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

Клетъчната линия Wilms1 първоначално е получена от първичен тумор на Уилмс, получен от пациент, диагностициран с големи двустранни тумори на бъбреците, което е характерна проява на тумора на Уилмс (нефробластом). Тази клетъчна линия е носител на хомозиготна безсмислена мутация в гена WT1 (c.149 C>A, p.S50X), която води до производството на съкратен, нефункционален протеин WT1. WT1 е критичен ген в развитието на бъбреците и неговата мутация е тясно свързана с патогенезата на тумора на Уилмс, особено при тумори, проявяващи стромална диференциация. Клетките на Wilms1 показват стабилен кариотип без значителни хромозомни аномалии и се характеризират с мезенхимен фенотип, като експресират виментин, а липсват епителни маркери като цитокератин. Линията показва ограничена, но значителна способност за мезенхимно диференциране, включително потенциал за диференциране в мускулоподобни клетки при специфични условия, което я прави важен модел за изследване на молекулярните последици от мутациите на WT1.
За да се преодолее ограничената продължителност на живота на първичните клетки Wilms1, беше създадена клетъчната линия imWilms1 чрез въвеждане на тройно мутирал голям Т антиген на SV40 (U19dl89-97tsA58) в оригиналните туморни клетки, което улеснява тяхното безсмъртие. Тази модификация позволява на клетките imWilms1 да се размножават неограничено, като същевременно запазват хромозомната си стабилност, като по този начин предлагат надежден модел за дългосрочни изследвания. Имортализираните клетки imWilms1 продължават да проявяват същата мутация WT1 и запазват мезенхимните характеристики на родителската линия Wilms1.
В допълнение към генетичните и фенотипните си характеристики клетъчната линия imWilms1 е подробно анализирана за активността на сигналните ѝ пътища. Протеомичните изследвания разкриха фосфорилиране и активиране на няколко рецепторни тирозинкинази (RTK), включително EGFR, PDGFRβ и AXL, с последващо активиране на MAPK сигналните пътища. Последователното активиране на тези пътища в клетките imWilms1 подчертава значението им за проучване на целеви терапевтични стратегии при тумора на Wilms. Като цяло imWilms1 служи като стабилен и дългосрочен модел за изследване на молекулярните механизми, които са в основата на развитието и прогресията на тумора на Wilms, особено на тези, които се дължат на мутации на WT1 и аберантни сигнални пътища.

Тъкан	Бъбреци
Заболяване	Тумор на Вилмс

Синоними

- IM-WT-1

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Секс	Женски
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Статус на ГМО	GMO-S1

Подробности относно статуса на ГМО

GMO-S1: This imWilms1 human Wilms tumor line contains a triple-mutant SV40 T-antigen cassette enabling conditional immortalization for nephroblastoma research. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Ниво на биологична безопасност	1

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

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфология	С форма на вретено
Тип клетка	Клетки на Вилмс

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

imWilms1 (каталожен номер 300412 на Cytion)

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	CVCL_A5SN

ПРОЯВА И ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ

Мутационен профил

Статус на мутация на WT1: хомозиготна c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, статус на мутация на CTNNB1: хетерозиготна TCT>TTT, p.S45F

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

Комплект MSCGM (от Lonza)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.
Реагент за дисоциация	Accutase

Пресаждане

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Обновяване на течността	1 до 2 пъти седмично

Размразяване и култивиране

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.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Възраст на донора	10 месеца
Етническа принадлежност	Кавказки

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Необходимо е споразумение за прехвърляне на материали	Yes