imWilms1

300412

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

Wilms1-cellelinjen stammer oprindeligt fra en primær Wilms-tumor fra en patient, der blev diagnosticeret med store bilaterale nyretumorer, en karakteristisk præsentation af Wilms-tumor (nefroblastom). Denne cellelinje har en homozygot nonsensmutation i WT1-genet (c.149 C>A, p.S50X), hvilket fører til produktion af et afkortet, ikke-funktionelt WT1-protein. WT1 er et kritisk gen i nyreudvikling, og dets mutation er tæt forbundet med patogenesen af Wilms-tumor, især i tumorer, der udviser stromal differentiering. Wilms1-celler har en stabil karyotype uden væsentlige kromosomale abnormiteter, og de er karakteriseret ved en mesenkymfænotype, der udtrykker vimentin, mens de mangler epitelmarkører som cytokeratin. Linjen viser en begrænset, men betydelig kapacitet til mesenkymal differentiering, herunder potentialet til at differentiere til muskellignende celler under specifikke forhold, hvilket gør den til en afgørende model til undersøgelse af de molekylære konsekvenser af WT1-mutationer.
For at overvinde den begrænsede levetid for de primære Wilms1-celler blev imWilms1-cellelinjen etableret ved at indføre et tredobbelt muteret SV40 stort T-antigen (U19dl89-97tsA58) i de oprindelige tumorceller, hvilket letter deres udødelighed. Denne modifikation gør det muligt for imWilms1-celler at formere sig på ubestemt tid, samtidig med at kromosomstabiliteten opretholdes, hvilket giver en pålidelig model til langtidsstudier. De udødelige imWilms1-celler udviser fortsat den samme WT1-mutation og bevarer de mesenkymale egenskaber ved den oprindelige Wilms1-linje.
Ud over sine genetiske og fænotypiske egenskaber er imWilms1-cellelinjen blevet grundigt analyseret for sin signalvejsaktivitet. Proteomiske undersøgelser har afsløret fosforylering og aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er), herunder EGFR, PDGFRβ og AXL, med downstream-aktivering af MAPK-signalvejene. Den konsekvente aktivering af disse veje i imWilms1-celler understreger deres relevans for at udforske målrettede terapeutiske strategier i Wilms-tumor. Alt i alt fungerer imWilms1 som en robust og langsigtet model til undersøgelse af de molekylære mekanismer, der ligger til grund for udvikling og progression af Wilms-tumorer, især dem, der er drevet af WT1-mutationer og afvigende signalveje.

Væv	Nyre
Sygdom	Wilms-tumor

Synonymer

- IM-WT-1

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Kvinde
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

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.

Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Spindelformet
Celletype	Wilms-celler

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

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

imWilms1 (Cytion-katalognummer 300412)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Mutationsprofil

WT1-mutationsstatus: homozygot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: heterozygot TCT>TTT, p.S45F

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

MSCGM-kit (fra Lonza)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.
Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Væskeudskiftning	1 til 2 gange om ugen

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	10 måneder
Etnisk tilhørsforhold	Kaukasisk

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytion står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der kræves en aftale om overførsel af materiale	Yes