imWilms1

300412

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

Die Wilms1-Zelllinie stammt ursprünglich von einem primären Wilms-Tumor, der bei einem Patienten mit großen beidseitigen Nierentumoren diagnostiziert wurde, einer charakteristischen Form des Wilms-Tumors (Nephroblastom). Diese Zelllinie weist eine homozygote Nonsense-Mutation im WT1-Gen auf (c.149 C>A, p.S50X), die zur Bildung eines verkürzten, nicht funktionsfähigen WT1-Proteins führt. WT1 ist ein entscheidendes Gen für die Nierenentwicklung, und seine Mutation steht in engem Zusammenhang mit der Pathogenese des Wilms-Tumors, insbesondere bei Tumoren, die eine stromale Differenzierung aufweisen. Wilms1-Zellen weisen einen stabilen Karyotyp ohne signifikante Chromosomenanomalien auf. Sie sind durch einen mesenchymalen Phänotyp gekennzeichnet, der Vimentin exprimiert, während epitheliale Marker wie Zytokeratin fehlen. Die Linie zeigt eine begrenzte, aber signifikante Fähigkeit zur mesenchymalen Differenzierung, einschließlich der Fähigkeit, sich unter bestimmten Bedingungen in muskelähnliche Zellen zu differenzieren, was sie zu einem wichtigen Modell für die Untersuchung der molekularen Folgen von WT1-Mutationen macht.
Um die begrenzte Lebensdauer der primären Wilms1-Zellen zu überwinden, wurde die imWilms1-Zelllinie durch die Einführung eines dreifach mutierten SV40 large T-Antigens (U19dl89-97tsA58) in die ursprünglichen Tumorzellen etabliert, was ihre Immortalisierung erleichtert. Dank dieser Modifikation können sich imWilms1-Zellen unbegrenzt vermehren und gleichzeitig die Chromosomenstabilität beibehalten, so dass sie ein zuverlässiges Modell für Langzeitstudien darstellen. Die immortalisierten imWilms1-Zellen weisen weiterhin die gleiche WT1-Mutation auf und behalten die mesenchymalen Eigenschaften der Wilms1-Elternlinie.
Zusätzlich zu ihren genetischen und phänotypischen Merkmalen wurde die imWilms1-Zelllinie umfassend auf ihre Signalwegaktivität untersucht. Proteomische Untersuchungen haben die Phosphorylierung und Aktivierung mehrerer Rezeptortyrosinkinasen (RTKs), einschließlich EGFR, PDGFRβ und AXL, mit nachgeschalteter Aktivierung der MAPK-Signalwege ergeben. Die konsequente Aktivierung dieser Signalwege in imWilms1-Zellen unterstreicht ihre Bedeutung für die Erforschung gezielter therapeutischer Strategien bei Wilms-Tumoren. Insgesamt dient imWilms1 als robustes und langfristiges Modell für die Untersuchung der molekularen Mechanismen, die der Entwicklung und dem Fortschreiten des Wilms-Tumors zugrunde liegen, insbesondere derjenigen, die durch WT1-Mutationen und abweichende Signalwege angetrieben werden.

Gewebe	Niere
Krankheit	Wilms-Tumor

Synonyme

- IM-WT-1

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Weiblich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
GVO-Status	GMO-S1

Angaben zum GVO-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.

Biologische Sicherheitsstufe	1

MERKMALE

Morphologie	Spindelförmig

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

Zelltyp	Wilms-Zellen

BEZEICHNER

Quellenangabe

imWilms1 (Cytion Katalognummer 300412)

NCBI-Steuer-ID	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Mutationsprofil

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

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

MSCGM-Kit (von Lonza)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.
Dissoziationsreagenz	Accutase

Subkultivierung

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Flüssigkeitswechsel	1 bis 2 Mal pro Woche

Auftauen und Kultivierung

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.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	10 Monate
Ethnische Zugehörigkeit	Kaukasisch

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Materialübertragungsvereinbarung erforderlich	Yes