imWilms1

300412

ΓΕΝΙΚΈΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΊΕΣ

Περιγραφή

Η κυτταρική σειρά Wilms1 προήλθε αρχικά από έναν πρωτοπαθή όγκο Wilms, ο οποίος προήλθε από ασθενή που διαγνώστηκε με μεγάλους αμφοτερόπλευρους νεφρικούς όγκους, μια χαρακτηριστική παρουσίαση του όγκου Wilms (νεφροβλάστωμα). Αυτή η κυτταρική σειρά φέρει μια ομόζυγη μετάλλαξη nonsense στο γονίδιο WT1 (c.149 C>A, p.S50X), που οδηγεί στην παραγωγή μιας κουτσουρεμένης, μη λειτουργικής πρωτεΐνης WT1. Το WT1 είναι ένα κρίσιμο γονίδιο στην ανάπτυξη των νεφρών και η μετάλλαξή του συνδέεται στενά με την παθογένεια του όγκου Wilms, ιδίως σε όγκους που παρουσιάζουν στρωματική διαφοροποίηση. Τα κύτταρα Wilms1 εμφανίζουν σταθερό καρυότυπο χωρίς σημαντικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες και χαρακτηρίζονται από μεσεγχυματικό φαινότυπο, εκφράζοντας βιμεντίνη, ενώ στερούνται επιθηλιακών δεικτών όπως η κυτταροκερατίνη. Η σειρά παρουσιάζει περιορισμένη αλλά σημαντική ικανότητα μεσεγχυματικής διαφοροποίησης, συμπεριλαμβανομένης της δυνατότητας διαφοροποίησης σε μυϊκά κύτταρα υπό συγκεκριμένες συνθήκες, καθιστώντας την ένα κρίσιμο μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών συνεπειών των μεταλλάξεων του WT1.
Για να ξεπεραστεί η περιορισμένη διάρκεια ζωής των πρωτογενών κυττάρων Wilms1, δημιουργήθηκε η κυτταρική σειρά imWilms1 με την εισαγωγή ενός τριπλά μεταλλαγμένου αντιγόνου SV40 large T (U19dl89-97tsA58) στα αρχικά καρκινικά κύτταρα, διευκολύνοντας την αθανασία τους. Η τροποποίηση αυτή επιτρέπει στα κύτταρα imWilms1 να πολλαπλασιάζονται επ' αόριστον, διατηρώντας παράλληλα τη χρωμοσωμική σταθερότητα, προσφέροντας έτσι ένα αξιόπιστο μοντέλο για μακροχρόνιες μελέτες. Τα αθάνατα κύτταρα imWilms1 συνεχίζουν να εμφανίζουν την ίδια μετάλλαξη WT1 και διατηρούν τα μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά της γονικής σειράς Wilms1.
Εκτός από τα γενετικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της, η κυτταρική σειρά imWilms1 έχει αναλυθεί εκτενώς ως προς τη δραστηριότητα των σηματοδοτικών μονοπατιών της. Οι πρωτεομικές μελέτες αποκάλυψαν τη φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση διαφόρων κινάσων τυροσίνης υποδοχέα (RTKs), συμπεριλαμβανομένων των EGFR, PDGFRβ και AXL, με επακόλουθη ενεργοποίηση των σηματοδοτικών μονοπατιών MAPK. Η συνεπής ενεργοποίηση αυτών των μονοπατιών στα κύτταρα imWilms1 υπογραμμίζει τη σημασία τους για τη διερεύνηση στοχευμένων θεραπευτικών στρατηγικών στον όγκο Wilms. Συνολικά, το imWilms1 χρησιμεύει ως ένα ισχυρό και μακροπρόθεσμο μοντέλο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την ανάπτυξη και την εξέλιξη του όγκου Wilms, ιδίως εκείνων που οδηγούνται από μεταλλάξεις του WT1 και ανώμαλα μονοπάτια σηματοδότησης.

Ιστός	Νεφρός
Ασθένεια	Όγκος Wilms

Συνώνυμα

- IM-WT-1

ΤΑΞΙΝΌΜΗΣΗ

Οργανισμός	Άνθρωπος
Σεξ	Γυναίκα
Ιδιότητες ανάπτυξης	Πιστός
Κατάσταση όσον αφορά τους ΓΤΟ	GMO-S1

Λεπτομέρειες σχετικά με την κατάσταση των ΓΤΟ

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.

Επίπεδο βιοασφάλειας	1

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΆ

Μορφολογία	Ατρακτοειδές σχήμα

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

Τύπος κυττάρου	Κύτταρα Wilms

ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΙΚΆ

Παραπομπή

imWilms1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300412)

Αριθμός φορολογικού μητρώου NCBI	9606
Κελλοσαύρος	CVCL_A5SN

ΈΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΕΥΑΙΣΘΗΣΊΑ

Προφίλ μεταλλάξεων

Κατάσταση μετάλλαξης WT1: ομοζυγωτική c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: ετεροζυγωτική TCT>TTT, p.S45F

ΧΕΙΡΙΣΜΌΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΈΡΓΕΙΑ

Θρεπτικό μέσο

Κιτ MSCGM (από τη Lonza)

Ατμόσφαιρα επώασης	37°C, 5%CO2, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Αντιδραστήριο αποσύνδεσης	Accutase

Αναπαραγωγή σε υποκαλλιέργεια

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Ανανέωση υγρών	1 έως 2 φορές την εβδομάδα

Απόψυξη και καλλιέργεια

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.

ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΌΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΚΡΥΟΣΥΝΤΉΡΗΣΗ

Στειρότητα

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.
Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

Μέσο κατάψυξης	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Συνθήκες αποθήκευσης

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Όροι αποστολής

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

ΔΩΡΗΤΉΣ

Ηλικία δωρητή	10 μήνες
Εθνικότητα	Καυκάσιος

ΝΟΜΙΚΆ ΘΈΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΆΛΕΙΑ

Μέτρα ασφαλείας

Όταν σχεδιάζετε να αποθηκεύσετε ένα κρυοφιαλίδιο σε υγρό άζωτο για μελλοντική απόψυξη, είναι υποχρεωτικό να τηρείτε αυστηρά μέτρα ασφαλείας. Τα κατάλληλα προστατευτικά γάντια και ο κατάλληλος προστατευτικός ρουχισμός είναι απαραίτητα, ενώ απαιτείται η χρήση μάσκας προσώπου ή γυαλιών ασφαλείας κατά τη μεταφορά κατεψυγμένων δειγμάτων προς ή από τη δεξαμενή υγρού αζώτου. Αυτό γίνεται για να μετριαστεί ο κίνδυνος τραυματισμού από πιθανές εκρήξεις κρυοσωλήνων κατά την απομάκρυνση, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν στην προβολή αιχμηρών θραυσμάτων.

Εγγύηση

Στην Cytion, υποστηρίζουμε την ποιότητα και τη βιωσιμότητα των προϊόντων μας.
Εγγυόμαστε ότι τα κύτταρά μας θα είναι βιώσιμα κατά την έναρξη της καλλιέργειας για 60 ημέρες μετά την αποστολή από τις εγκαταστάσεις μας.
Διαβεβαιώνουμε ότι όλα τα υλικά συμμορφώνονται με τις προδιαγραφές που περιγράφονται στο Πιστοποιητικό Ανάλυσης ή/και στο Φύλλο Προϊόντος
Για πλήρεις λεπτομέρειες, ανατρέξτε στην <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Δήλωση εγγύησης

Απαιτείται συμφωνία μεταφοράς υλικού	Yes