# imWilms1

300412

## ÜLDINE TEAVE

### Kirjeldus

Wilms1 rakuliin on algselt saadud Wilmsi primaarsest kasvajast, mis saadi patsiendilt, kellel diagnoositi suured kahepoolsed neerukasvajad, mis on Wilmsi kasvaja (nefroblastoomi) iseloomulik esinemisviis. Selles rakuliinis on homosügootne mõttetu mutatsioon WT1 geenis (c.149 C>A, p.S50X), mis põhjustab kärbitud, mittefunktsionaalse WT1 valgu teket. WT1 on neerude arengus kriitilise tähtsusega geen ja selle mutatsioon on tihedalt seotud Wilmsi kasvaja patogeneesiga, eriti stromaalse diferentseerumisega kasvajate puhul. Wilms1 rakkudel on stabiilne karüotüüp ilma oluliste kromosoomianomaaliateta ning neid iseloomustab mesenhüümne fenotüüp, mis ekspresseerib vimentiini, kuid millel puuduvad epiteeli markerid, nagu tsütokeratiin. Liinil on piiratud, kuid märkimisväärne võime mesenhüümiliseks diferentseerumiseks, sealhulgas võime diferentseeruda teatud tingimustel lihasarnasteks rakkudeks, mis muudab selle oluliseks mudeliks WT1 mutatsioonide molekulaarsete tagajärgede uurimiseks.
Et ületada primaarsete Wilms1-rakkude piiratud eluiga, loodi imWilms1 rakuliin, viies algsetesse kasvajarakkudesse sisse kolmekordse mutandi SV40 suure T antigeeni (U19dl89-97tsA58), mis hõlbustab nende immortaliseerimist. See modifikatsioon võimaldab imWilms1 rakkudel piiramatult paljuneda, säilitades samal ajal kromosomaalse stabiilsuse, pakkudes seega usaldusväärset mudelit pikaajalisteks uuringuteks. Immortaliseeritud imWilms1-rakkudel on jätkuvalt sama WT1-mutatsioon ja nad säilitavad Wilms1 vanemliini mesenhüümilised omadused.
Lisaks geneetilistele ja fenotüüpilistele omadustele on imWilms1 rakuliini ulatuslikult analüüsitud selle signaaliradade aktiivsuse suhtes. Proteoomilised uuringud on näidanud mitmete retseptoritürosiini kinaaside (RTK), sealhulgas EGFR, PDGFRβ ja AXL fosforüleerimist ja aktiveerimist ning MAPK-signaaliradade allavoolu aktiveerimist. Nende radade järjepidev aktiveerimine imWilms1 rakkudes rõhutab nende tähtsust Wilmsi kasvaja sihtotstarbeliste ravistrateegiate uurimisel. Üldiselt on imWilms1 usaldusväärne ja pikaajaline mudel Wilmsi kasvaja arengu ja progresseerumise aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks, eriti nende, mis on tingitud WT1 mutatsioonidest ja kõrvalekalduvatest signaaliradadest.

| | |
|---|---|
| **Kude** | Neerud |
| **Haigus** | Wilmsi kasvaja |

### Sünonüümid

- IM-WT-1

## KLASSIFIKATSIOON

| | |
|---|---|
| **Organism** | Inimene |
| **Sugu** | Naine |
| **Kasvuvõime** | Järgija |
| **GMO-staatus** | GMO-S1 |

### GMO-staatuse üksikasjad

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.

| | |
|---|---|
| **Bioloogilise ohutuse tase** | 1 |

## OMADUSED

| | |
|---|---|
| **Morfoloogia** | Spindlikujuline |
| **Rakutüüp** | Wilmsi rakud |

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

## TUNNUSED

### Viide

imWilms1 (Cytioni kataloginumber 300412)

| | |
|---|---|
| **NCBI maksukood** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_A5SN |

## AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

### Mutatsiooniprofiil

WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatsiooni staatus: heterosügootne TCT>TTT, p.S45F

## KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

### Kasvatuskeskkond

MSCGM komplekt (Lonza)

| | |
|---|---|
| **Inkubatsiooni keskkond** | 37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär. |
| **Dissotsiatsioonireaktiiv** | Accutase |

### Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

| | |
|---|---|
| **Vedeliku vahetus** | 1 kuni 2 korda nädalas |

### Sulatamine ja kasvatamine

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.

## KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

### Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

| | |
|---|---|
| **Külmutuskeskkond** | Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi. |

**Säilitamistingimused**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Tarne- ja kohaletoimetamistingimused**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## ANNETAJA

| | |
|---|---|
| **Doonori vanus** | 10 kuud |
| **Etniline kuuluvus** | Kaukaasia |

## ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

**Ohutusnõuded**

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

**Garantii**

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

| | |
|---|---|
| **Vajalik on materjalide üleandmise leping** | Yes |