imWilms1

300412

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

Wilms1-solulinja on alun perin peräisin primaarisesta Wilmsin kasvaimesta, joka saatiin potilaalta, jolla oli diagnosoitu suuria molemminpuolisia munuaiskasvaimia, mikä on Wilmsin kasvaimen (nefroblastooma) tyypillinen oire. Tässä solulinjassa on homotsygoottinen nonsense-mutaatio WT1-geenissä (c.149 C>A, p.S50X), joka johtaa typistetyn, toimimattoman WT1-proteiinin tuotantoon. WT1 on kriittinen geeni munuaisten kehityksessä, ja sen mutaatio liittyy läheisesti Wilmsin kasvaimen patogeneesiin, erityisesti kasvaimissa, joilla on stroomaalinen erilaistuminen. Wilms1-soluilla on vakaa karyotyyppi ilman merkittäviä kromosomipoikkeavuuksia, ja niille on ominaista mesenkymaalinen fenotyyppi, joka ilmentää vimentiiniä, mutta josta puuttuvat epiteelin merkkiaineet, kuten sytokeratiini. Linjalla on rajallinen mutta merkittävä kyky mesenkymaaliseen erilaistumiseen, mukaan lukien mahdollisuus erilaistua lihaksen kaltaisiksi soluiksi tietyissä olosuhteissa, mikä tekee siitä ratkaisevan tärkeän mallin WT1-mutaatioiden molekulaaristen seurausten tutkimiseen.
Primaaristen Wilms1-solujen rajallisen eliniän voittamiseksi perustettiin imWilms1-solulinja tuomalla alkuperäisiin kasvainsoluihin kolminkertainen mutantti SV40 large T -antigeeni (U19dl89-97tsA58), joka helpottaa niiden kuolemattomuutta. Tämän muutoksen ansiosta imWilms1-solut voivat lisääntyä loputtomiin säilyttäen kromosomistabiilisuuden, mikä tarjoaa luotettavan mallin pitkäaikaisia tutkimuksia varten. Immortalisoiduissa imWilms1-soluissa on edelleen sama WT1-mutaatio, ja ne säilyttävät vanhemman Wilms1-linjan mesenkymaaliset ominaisuudet.
Geneettisten ja fenotyyppisten ominaisuuksien lisäksi imWilms1-solulinjaa on analysoitu laajasti sen signaalireittien aktiivisuuden osalta. Proteomitutkimukset ovat paljastaneet useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten EGFR:n, PDGFRβ:n ja AXL:n, fosforylaation ja aktivoitumisen sekä MAPK-signalointireittien aktivoitumisen. Näiden reittien johdonmukainen aktivoituminen imWilms1-soluissa korostaa niiden merkitystä Wilmsin kasvaimen kohdennettujen hoitostrategioiden tutkimisessa. Kaiken kaikkiaan imWilms1 toimii vankkana ja pitkäaikaisena mallina Wilmsin kasvaimen kehittymisen ja etenemisen taustalla olevien molekulaaristen mekanismien tutkimiseen, erityisesti WT1-mutaatioiden ja poikkeavien signaalireittien ohjaamien mekanismien.

Kudos	Munuaiset
Sairaus	Wilmsin kasvain

Synonyymit

- IM-WT-1

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Karanmuotoinen
Solutyyppi	Wilmsin solut

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

TUNNISTEET

Lähdeviite

imWilms1 (Cytionin luettelonumero 300412)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Mutaatioprofiili

WT1-mutaation status: homotsygoottinen c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutaation status: heterotsygoottinen TCT>TTT, p.S45F

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

MSCGM-pakkaus (Lonza)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.
Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Nesteen uusiminen	1-2 kertaa viikossa

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	10 kuukautta
Etnisyys	Kaukasialainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"""">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	Yes