imWilms1

300412

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

Wilms1 ląstelių linija iš pradžių buvo gauta iš pirminio Vilmso naviko, gauto iš paciento, kuriam buvo diagnozuoti dideli abipusiai inkstų navikai, būdingi Vilmso navikui (nefroblastomai). Ši ląstelių linija turi homozigotinę WT1 geno beprasmę mutaciją (c.149 C>A, p.S50X), dėl kurios susidaro sutrumpintas, nefunkcionalus WT1 baltymas. WT1 yra labai svarbus genas inkstų vystymuisi, o jo mutacija yra glaudžiai susijusi su Vilmso naviko patogeneze, ypač stromos diferenciacija pasižyminčiuose navikuose. Wilms1 ląstelės pasižymi stabiliu kariotipu be reikšmingų chromosomų anomalijų, joms būdingas mezenchiminis fenotipas, jose ekspresuojamas vimentinas, tačiau nėra epitelio žymenų, pavyzdžiui, citokeratino. Ši linija pasižymi ribotu, bet reikšmingu mezenchiminės diferenciacijos gebėjimu, įskaitant galimybę tam tikromis sąlygomis diferencijuotis į raumenines ląsteles, todėl ji yra labai svarbus modelis WT1 mutacijų molekulinėms pasekmėms tirti.
Siekiant įveikti ribotą pirminių Wilms1 ląstelių gyvavimo trukmę, buvo sukurta imWilms1 ląstelių linija, į pirmines naviko ląsteles įterpiant trigubą mutavusį SV40 didelį T antigeną (U19dl89-97tsA58) ir taip palengvinant jų imortalizaciją. Ši modifikacija leidžia imWilms1 ląstelėms daugintis neribotą laiką, išlaikant chromosomų stabilumą, todėl tai yra patikimas ilgalaikių tyrimų modelis. Imortalizuotos imWilms1 ląstelės ir toliau pasižymi ta pačia WT1 mutacija ir išlaiko mezenchimines pirminės Wilms1 linijos savybes.
Be genetinių ir fenotipinių savybių, imWilms1 ląstelių linija buvo išsamiai ištirta dėl jos signalinio kelio aktyvumo. Proteominiai tyrimai atskleidė kelių receptorių tirozino kinazių (RTK), įskaitant EGFR, PDGFRβ ir AXL, fosforilinimą ir aktyvinimą, kartu su tolesniu MAPK signalinių kelių aktyvinimu. Nuolatinis šių kelių aktyvavimas imWilms1 ląstelėse pabrėžia jų svarbą tiriant tikslines Vilmso naviko gydymo strategijas. Apskritai imWilms1 yra patikimas ir ilgalaikis modelis, kuriuo galima tirti molekulinius mechanizmus, lemiančius Vilmso naviko vystymąsi ir progresavimą, ypač tuos, kuriuos lemia WT1 mutacijos ir pakitę signaliniai keliai.

Audinys	Inkstai
Liga	Vilmso navikas

Sinonimai

- IM-WT-1

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Moteris
Augimo savybės	Prisijungęs
GMO statusas	GMO-S1

Išsami informacija apie GMO statusą

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.

Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Verpstės formos
Ląstelių tipas	Vilmso ląstelės

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

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

imWilms1 (Cytion katalogo numeris 300412)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Mutacijų profilis

WT1 mutacijos būklė: homozigotinė c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutacijos būklė: heterozigotinė TCT>TTT, p.S45F

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

MSCGM rinkinys (iš "Lonza")

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.
Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Skysčių atnaujinimas	1-2 kartus per savaitę

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	10 mėnesių
Etninė priklausomybė	Kaukaziečių

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Reikalinga medžiagų perdavimo sutartis	Yes

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