imWilms1

300412

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

Wilms1-cellelinjen ble opprinnelig avledet fra en primær Wilms-svulst fra en pasient som ble diagnostisert med store bilaterale nyresvulster, en karakteristisk presentasjon av Wilms-svulst (nefroblastom). Denne cellelinjen har en homozygot nonsensmutasjon i WT1-genet (c.149 C>A, p.S50X), noe som fører til produksjon av et avkortet, ikke-funksjonelt WT1-protein. WT1 er et kritisk gen i nyreutviklingen, og mutasjonen er nært forbundet med patogenesen av Wilms-svulster, særlig i svulster som viser stromal differensiering. Wilms1-celler har en stabil karyotype uten signifikante kromosomavvik, og de er karakterisert av en mesenkymal fenotype som uttrykker vimentin, men mangler epitelmarkører som cytokeratin. Linjen viser en begrenset, men betydelig kapasitet for mesenkymal differensiering, inkludert potensialet for å differensiere til muskellignende celler under spesifikke forhold, noe som gjør den til en viktig modell for å studere de molekylære konsekvensene av WT1-mutasjoner.
For å overvinne den begrensede levetiden til de primære Wilms1-cellene ble imWilms1-cellelinjen etablert ved å introdusere en trippelmutant av SV40 large T-antigenet (U19dl89-97tsA58) i de opprinnelige tumorcellene, noe som muliggjør udødeliggjøring av disse. Denne modifikasjonen gjør at imWilms1-cellene kan formere seg på ubestemt tid, samtidig som kromosomstabiliteten opprettholdes, noe som gir en pålitelig modell for langtidsstudier. De udødelige imWilms1-cellene har fortsatt den samme WT1-mutasjonen og beholder de mesenkymale egenskapene til den opprinnelige Wilms1-linjen.
I tillegg til de genetiske og fenotypiske egenskapene har imWilms1-cellelinjen blitt grundig analysert med tanke på signalveisaktivitet. Proteomstudier har avdekket fosforylering og aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), inkludert EGFR, PDGFRβ og AXL, med nedstrøms aktivering av MAPK-signalveiene. Den konsekvente aktiveringen av disse signalveiene i imWilms1-celler understreker deres relevans for utforsking av målrettede terapeutiske strategier i Wilms-svulster. Alt i alt fungerer imWilms1 som en robust og langsiktig modell for å undersøke de molekylære mekanismene som ligger til grunn for utvikling og progresjon av Wilms-svulster, spesielt de som er drevet av WT1-mutasjoner og avvikende signalveier.

Vev	Nyre
Sykdom	Wilms-svulst

Synonymer

- IM-WT-1

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Sex	Kvinne
Vekstegenskaper	Tilhenger
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-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.

Biosikkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Spindelformet
Celletype	Wilms-celler

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

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

imWilms1 (Cytion-katalognummer 300412)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Mutasjonsprofil

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

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

MSCGM-sett (fra Lonza)

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.
Dissosiasjonsmiddel	Accutase

Subkultivering

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Væskefornyelse	1 til 2 ganger per uke

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Donorens alder	10 måneder
Etnisitet	Kaukasisk

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtale om materialoverføring kreves	Yes