imWilms1

300412

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De Wilms1-cellijn is oorspronkelijk afgeleid van een primaire Wilms-tumor, verkregen van een patiënt bij wie grote bilaterale niertumoren werden vastgesteld, een karakteristieke verschijningsvorm van Wilms-tumor (nefroblastoom). Deze cellijn bevat een homozygote nonsensmutatie in het WT1-gen (c.149 C>A, p.S50X), wat leidt tot de productie van een afgekapt, niet-functioneel WT1-eiwit. WT1 is een cruciaal gen in de ontwikkeling van de nier en de mutatie is nauw geassocieerd met de pathogenese van Wilms tumor, vooral in tumoren met stromale differentiatie. Wilms1-cellen hebben een stabiel karyotype zonder significante chromosoomafwijkingen en worden gekenmerkt door een mesenchymaal fenotype, waarbij vimentine tot expressie komt en epitheliale markers zoals cytokeratine ontbreken. De lijn vertoont een beperkte maar significante capaciteit voor mesenchymale differentiatie, inclusief de mogelijkheid om te differentiëren in spierachtige cellen onder specifieke omstandigheden, waardoor het een cruciaal model is voor het bestuderen van de moleculaire gevolgen van WT1-mutaties. Om de beperkte levensduur van de primaire Wilms1-cellen te overwinnen, werd de imWilms1-cellijn gemaakt door een drievoudig gemuteerd SV40-groot T-antigeen (U19dl89-97tsA58) in de oorspronkelijke tumorcellen te introduceren, waardoor hun immortalisatie werd vergemakkelijkt. Door deze modificatie kunnen imWilms1-cellen zich onbeperkt vermenigvuldigen met behoud van chromosomale stabiliteit, waardoor ze een betrouwbaar model vormen voor langetermijnstudies. De geïmmortaliseerde imWilms1 cellen blijven dezelfde WT1 mutatie vertonen en behouden de mesenchymale kenmerken van de ouder Wilms1 lijn.
Naast de genetische en fenotypische kenmerken is de imWilms1 cellijn uitgebreid geanalyseerd op zijn signaalwegactiviteit. Proteomische studies hebben de fosforylering en activering van verschillende receptortyrosinekinasen (RTK's) aangetoond, waaronder EGFR, PDGFRβ en AXL, met downstream activering van de MAPK-signaalroutes. De consistente activering van deze pathways in imWilms1 cellen onderstreept hun relevantie voor het verkennen van gerichte therapeutische strategieën in Wilms tumor. Over het geheel genomen dient imWilms1 als een robuust en langdurig model voor het onderzoeken van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling en progressie van Wilms tumoren, met name die welke worden aangedreven door WT1-mutaties en afwijkende signaalroutes.

Weefsel	Nieren
Ziekte	Wilms tumor

Synoniemen

- IM-WT-1

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Vrouw
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-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.

Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Spilvormig
Celtype	Wilms cellen

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

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

imWilms1 (Cytion catalogusnummer 300412)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Mutatieprofiel

WT1 mutatiestatus: homozygoot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatiestatus: heterozygoot TCT>TTT, p.S45F

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

MSCGM-kit (van Lonza)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.
Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Vloeistofverversing	1 tot 2 keer per week

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	10 maanden
Etnische afkomst	Kaukasisch

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	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