imWilms1

300412

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa Wilms1 została pierwotnie uzyskana z pierwotnego guza Wilmsa, uzyskanego od pacjenta, u którego zdiagnozowano duże obustronne guzy nerek, charakterystyczne dla guza Wilmsa (nephroblastoma). Ta linia komórkowa jest nosicielem homozygotycznej mutacji nonsensownej w genie WT1 (c.149 C>A, p.S50X), prowadzącej do produkcji skróconego, niefunkcjonalnego białka WT1. WT1 jest krytycznym genem w rozwoju nerek, a jego mutacja jest ściśle związana z patogenezą guza Wilmsa, szczególnie w guzach wykazujących różnicowanie zrębu. Komórki Wilmsa1 wykazują stabilny kariotyp bez znaczących nieprawidłowości chromosomalnych i charakteryzują się fenotypem mezenchymalnym, ekspresją wimentyny przy jednoczesnym braku markerów nabłonkowych, takich jak cytokeratyna. Linia wykazuje ograniczoną, ale znaczącą zdolność do różnicowania mezenchymalnego, w tym potencjał do różnicowania się w komórki mięśniopodobne w określonych warunkach, co czyni ją kluczowym modelem do badania molekularnych konsekwencji mutacji WT1.
Aby przezwyciężyć ograniczoną żywotność pierwotnych komórek Wilms1, utworzono linię komórkową imWilms1 poprzez wprowadzenie potrójnie zmutowanego antygenu SV40 large T (U19dl89-97tsA58) do oryginalnych komórek nowotworowych, ułatwiając ich unieśmiertelnienie. Modyfikacja ta pozwala komórkom imWilms1 proliferować w nieskończoność przy zachowaniu stabilności chromosomalnej, oferując tym samym niezawodny model do badań długoterminowych. Unieśmiertelnione komórki imWilms1 nadal wykazują tę samą mutację WT1 i zachowują cechy mezenchymalne macierzystej linii Wilms1.
Oprócz cech genetycznych i fenotypowych, linia komórkowa imWilms1 została szeroko przeanalizowana pod kątem aktywności szlaku sygnałowego. Badania proteomiczne ujawniły fosforylację i aktywację kilku receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK), w tym EGFR, PDGFRβ i AXL, z aktywacją szlaków sygnałowych MAPK. Konsekwentna aktywacja tych szlaków w komórkach imWilms1 podkreśla ich znaczenie dla badania ukierunkowanych strategii terapeutycznych w guzie Wilmsa. Ogólnie rzecz biorąc, imWilms1 służy jako solidny i długoterminowy model do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw rozwoju i progresji guza Wilmsa, szczególnie tych napędzanych przez mutacje WT1 i nieprawidłowe szlaki sygnałowe.

Chusteczka	Nerka
Choroba	Guz Wilmsa

Synonimy

- IM-WT-1

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Wrzecionowaty kształt
Typ komórki	Komórki Wilmsa

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

IDENTYFIKATORY

Źródło

imWilms1 (numer katalogowy Cytion 300412)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Profil mutacji

Status mutacji WT1: homozygotyczny c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, status mutacji CTNNB1: heterozygotyczny TCT>TTT, p.S45F

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

Zestaw MSCGM (od Lonza)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.
Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Odnawianie płynów	1 do 2 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	10 miesięcy
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes