imWilms1

300412

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

Bunková línia Wilms1 bola pôvodne odvodená z primárneho Wilmsovho nádoru získaného od pacienta s diagnózou veľkých bilaterálnych nádorov obličiek, čo je charakteristický prejav Wilmsovho nádoru (nefroblastómu). Táto bunková línia obsahuje homozygotnú nezmyselnú mutáciu v géne WT1 (c.149 C>A, p.S50X), ktorá vedie k produkcii skráteného, nefunkčného proteínu WT1. WT1 je kritický gén vo vývoji obličiek a jeho mutácia je úzko spojená s patogenézou Wilmsovho nádoru, najmä v nádoroch vykazujúcich stromálnu diferenciáciu. Bunky Wilms1 vykazujú stabilný karyotyp bez významných chromozomálnych abnormalít a vyznačujú sa mezenchýmovým fenotypom, exprimujú vimentín, pričom im chýbajú epiteliálne markery, ako je cytokeratín. Táto línia vykazuje obmedzenú, ale významnú schopnosť mezenchýmovej diferenciácie vrátane potenciálu diferencovať sa na bunky podobné svalom za špecifických podmienok, čo z nej robí kľúčový model na štúdium molekulárnych dôsledkov mutácií WT1.
Na prekonanie obmedzenej životnosti primárnych buniek Wilms1 bola vytvorená bunková línia imWilms1 zavedením trojnásobne mutovaného veľkého antigénu SV40 T (U19dl89-97tsA58) do pôvodných nádorových buniek, čo uľahčilo ich imortalizáciu. Táto modifikácia umožňuje bunkám imWilms1 množiť sa neobmedzene dlho pri zachovaní chromozómovej stability, čím ponúka spoľahlivý model na dlhodobé štúdie. Imortalizované bunky imWilms1 naďalej vykazujú tú istú mutáciu WT1 a zachovávajú si mezenchýmové vlastnosti materskej línie Wilms1.
Okrem genetických a fenotypových vlastností bola bunková línia imWilms1 podrobne analyzovaná z hľadiska aktivity signálnych dráh. Proteomické štúdie odhalili fosforyláciu a aktiváciu niekoľkých receptorových tyrozínkináz (RTK) vrátane EGFR, PDGFRβ a AXL s následnou aktiváciou signálnych dráh MAPK. Dôsledná aktivácia týchto dráh v bunkách imWilms1 zdôrazňuje ich význam pre skúmanie cielených terapeutických stratégií pri Wilmsovom nádore. Celkovo imWilms1 slúži ako robustný a dlhodobý model na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom vývoja a progresie Wilmsovho nádoru, najmä tých, ktoré sú spôsobené mutáciami WT1 a aberantnými signálnymi dráhami.

Tkanivo	Obličky
Choroba	Wilmsov nádor

Synonymá

- IM-WT-1

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Človek
Sex	Žena
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o štatúte 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.

Úroveň biologickej bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKY

Morfológia	Vreteno v tvare vretena
Typ bunky	Wilmsove bunky

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

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

imWilms1 (katalógové číslo Cytion 300412)

Daňové identifikačné číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

PREJAV A NÁCHYLNOSŤ

Mutčný profil

Stav mutácie WT1: homozygotná c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, stav mutácie CTNNB1: heterozygotná TCT>TTT, p.S45F

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

Súprava MSCGM (od spoločnosti Lonza)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.
Disociačné činidlo	Accutase

Rozmnožovanie kultúr

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Obnova kvapaliny	1 až 2-krát týždenne

Rozmrazovanie a kultivácia

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 KVALITY A KRYOKONZERVÁCIA

Sterilita

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Mrazové médium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

DARCA

Vek darcu	10 mesiacov
Etnická príslušnosť	Kaukazský

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Je potrebná dohoda o prenose materiálu	Yes