imWilms1

300412

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celična linija Wilms1 je bila prvotno pridobljena iz primarnega Wilmsovega tumorja, ki je bil pridobljen od bolnika z diagnozo velikih obojestranskih ledvičnih tumorjev, kar je značilna oblika Wilmsovega tumorja (nefroblastoma). Ta celična linija ima homozigotno nesmiselno mutacijo v genu WT1 (c.149 C>A, p.S50X), ki povzroča nastajanje skrajšanega, nefunkcionalnega proteina WT1. Gen WT1 je ključnega pomena za razvoj ledvic, njegova mutacija pa je tesno povezana s patogenezo Wilmsovega tumorja, zlasti pri tumorjih, ki kažejo stromalno diferenciacijo. Celice Wilms1 imajo stabilen kariotip brez večjih kromosomskih nepravilnosti, zanje je značilen mezenhimski fenotip, saj izražajo vimentin, nimajo pa epitelijskih označevalcev, kot je citokeratin. Linija kaže omejeno, vendar pomembno sposobnost mezenhimske diferenciacije, vključno z možnostjo diferenciacije v mišične celice pod posebnimi pogoji, zaradi česar je ključni model za preučevanje molekularnih posledic mutacij WT1.
Da bi premagali omejeno življenjsko dobo primarnih celic Wilms1, je bila celična linija imWilms1 vzpostavljena z vnosom trojnega mutiranega antigena SV40 velikega T (U19dl89-97tsA58) v prvotne tumorske celice, kar je omogočilo njihovo nesmrtnost. Ta modifikacija omogoča celicam imWilms1 neomejeno razmnoževanje ob ohranjanju kromosomske stabilnosti, s tem pa ponuja zanesljiv model za dolgoročne študije. Imortalizirane celice imWilms1 še naprej kažejo isto mutacijo WT1 in ohranjajo mezenhimske značilnosti starševske linije Wilms1.
Poleg genetskih in fenotipskih značilnosti je bila celična linija imWilms1 obsežno analizirana glede aktivnosti signalnih poti. Proteomske študije so razkrile fosforilacijo in aktivacijo več receptorskih tirozin kinaz (RTK), vključno z EGFR, PDGFRβ in AXL, z nadaljnjo aktivacijo signalnih poti MAPK. Dosledna aktivacija teh poti v celicah imWilms1 poudarja njihov pomen za raziskovanje ciljnih terapevtskih strategij pri tumorju Wilms. Na splošno je imWilms1 zanesljiv in dolgoročen model za raziskovanje molekularnih mehanizmov, ki so podlaga za razvoj in napredovanje tumorja Wilms, zlasti tistih, ki so posledica mutacij WT1 in aberantnih signalnih poti.

Tkivo	Ledvice
Bolezen	Wilmsov tumor

Sinonimi

- IM-WT-1

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Ženska
Lastnosti rasti	Pripadnik
Status GSO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GSO

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.

Stopnja biološke varnosti	1

ZNAČILNOSTI

Morfologija	Vretenasta oblika
Vrsta celice	Wilmsove celice

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

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

imWilms1 (Cytionova kataloška številka 300412)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Profil mutacij

Status mutacije WT1: homozigotna c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, status mutacije CTNNB1: heterozigotna TCT>TTT, p.S45F

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

Komplet MSCGM (Lonza)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.
Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Obnova tekočine	1 do 2-krat na teden

Odtaljevanje in gojenje

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 KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	10 mesecev
Etnična pripadnost	Kavkaški

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Potreben je sporazum o prenosu materiala	Yes