imWilms1

300412

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

Wilms1-cellinjen härrör ursprungligen från en primär Wilms-tumör, som erhölls från en patient som diagnostiserats med stora bilaterala njurtumörer, en karakteristisk bild av Wilms-tumör (nefroblastom). Denna cellinje har en homozygot nonsensmutation i WT1-genen (c.149 C>A, p.S50X), vilket leder till produktion av ett trunkerat, icke-funktionellt WT1-protein. WT1 är en kritisk gen för njurarnas utveckling och dess mutation är nära förknippad med patogenesen för Wilms tumör, särskilt i tumörer som uppvisar stromal differentiering. Wilms1-cellerna uppvisar en stabil karyotyp utan signifikanta kromosomavvikelser och de kännetecknas av en mesenkymal fenotyp som uttrycker vimentin men saknar epiteliala markörer som cytokeratin. Linjen uppvisar en begränsad men signifikant kapacitet för mesenkymal differentiering, inklusive potentialen att differentieras till muskelliknande celler under specifika förhållanden, vilket gör den till en viktig modell för att studera de molekylära konsekvenserna av WT1-mutationer.
För att övervinna den begränsade livslängden hos de primära Wilms1-cellerna etablerades imWilms1-cellinjen genom att införa en trippelmutant SV40 large T-antigen (U19dl89-97tsA58) i de ursprungliga tumörcellerna, vilket underlättade deras odödlighet. Denna modifiering gör att imWilms1-cellerna kan föröka sig på obestämd tid med bibehållen kromosomstabilitet, vilket ger en tillförlitlig modell för långtidsstudier. De odödliga imWilms1-cellerna fortsätter att uppvisa samma WT1-mutation och bibehåller de mesenkymala egenskaperna hos den ursprungliga Wilms1-linjen.
Förutom de genetiska och fenotypiska egenskaperna har imWilms1-cellinjen analyserats ingående med avseende på dess signalvägsaktivitet. Proteomiska studier har visat på fosforylering och aktivering av flera receptortyrosinkinaser (RTK), inklusive EGFR, PDGFRβ och AXL, med nedströmsaktivering av MAPK-signalvägarna. Den konsekventa aktiveringen av dessa signalvägar i imWilms1-celler understryker deras relevans för att utforska riktade terapeutiska strategier för Wilms tumör. Sammantaget fungerar imWilms1 som en robust och långsiktig modell för att undersöka de molekylära mekanismer som ligger till grund för utveckling och progression av Wilms-tumörer, särskilt sådana som drivs av WT1-mutationer och avvikande signalvägar.

Vävnad	Njurar
Sjukdom	Wilms tumör

Synonymer

- IM-WT-1

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Kvinna
Tillväxtegenskaper	Följsam
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.

Biosäkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Spindelformad
Celltyp	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

IDENTIFIERARE

Källa

imWilms1 (Cytion katalognummer 300412)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Mutationsprofil

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

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

MSCGM-kit (från Lonza)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.
Dissociationsmedel	Accutase

Vidareodling

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Vätskeförnyelse	1 till 2 gånger per vecka

Upptining och odling

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 OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Donatorns ålder	10 månader
Etnicitet	Kaukasisk

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal om materialöverföring krävs	Yes