imWilms1

300412

GENEL BILGILER

Açıklama

Wilms1 hücre hattı orijinal olarak, Wilms tümörünün (nefroblastom) karakteristik bir sunumu olan büyük bilateral böbrek tümörleri tanısı konan bir hastadan elde edilen bir primer Wilms tümöründen türetilmiştir. Bu hücre hattı, WT1 geninde (c.149 C>A, p.S50X) homozigot saçma bir mutasyon barındırır ve kesilmiş, işlevsel olmayan bir WT1 proteininin üretilmesine yol açar. WT1 böbrek gelişiminde kritik bir gendir ve mutasyonu, özellikle stromal farklılaşma gösteren tümörlerde Wilms tümörünün patogenezi ile yakından ilişkilidir. Wilms1 hücreleri önemli kromozomal anormallikler olmaksızın stabil bir karyotip sergiler ve sitokeratin gibi epitelyal belirteçlerden yoksunken vimentin eksprese eden mezenkimal bir fenotip ile karakterize edilirler. Bu hat, belirli koşullar altında kas benzeri hücrelere farklılaşma potansiyeli de dahil olmak üzere mezenkimal farklılaşma için sınırlı ancak önemli bir kapasite gösterir ve bu da onu WT1 mutasyonlarının moleküler sonuçlarını incelemek için çok önemli bir model haline getirir.
Birincil Wilms1 hücrelerinin sınırlı ömrünün üstesinden gelmek için, imWilms1 hücre hattı, orijinal tümör hücrelerine üçlü mutant SV40 büyük T antijeni (U19dl89-97tsA58) eklenerek ölümsüzleştirilmelerini kolaylaştırarak oluşturulmuştur. Bu modifikasyon, imWilms1 hücrelerinin kromozomal stabiliteyi korurken süresiz olarak çoğalmasını sağlar ve böylece uzun vadeli çalışmalar için güvenilir bir model sunar. Ölümsüzleştirilmiş imWilms1 hücreleri aynı WT1 mutasyonunu sergilemeye devam etmekte ve ana Wilms1 hattının mezenkimal özelliklerini korumaktadır.
Genetik ve fenotipik özelliklerine ek olarak, imWilms1 hücre hattı sinyal yolu aktivitesi açısından kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Proteomik çalışmalar, EGFR, PDGFRβ ve AXL dahil olmak üzere çeşitli reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) fosforilasyonunu ve aktivasyonunu ve MAPK sinyal yollarının aşağı akış aktivasyonunu ortaya çıkarmıştır. Bu yolakların imWilms1 hücrelerindeki tutarlı aktivasyonu, Wilms tümöründe hedefe yönelik terapötik stratejilerin araştırılması için uygunluklarının altını çizmektedir. Genel olarak, imWilms1, Wilms tümör gelişimi ve ilerlemesinin altında yatan moleküler mekanizmaları, özellikle de WT1 mutasyonları ve anormal sinyal yolakları tarafından yönlendirilenleri araştırmak için sağlam ve uzun vadeli bir model görevi görmektedir.

Doku	Böbrek
Hastalık	Wilms Tümörü

Eş anlamlılar

- IM-WT-1

SINIFLANDIRMA

Canlı	İnsan
Cinsiyet	Kadın
Büyüme özellikleri	Bağlı
GDO durumu	GMO-S1

GDO durumuna ilişkin ayrıntılar

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.

Biyogüvenlik seviyesi	1

ÖZELLIKLER

Morfoloji	İğ şeklinde
Hücre türü	Wilms hücreleri

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

TANIMLAYICILAR

Kaynak gösterimi

imWilms1 (Cytion katalog numarası 300412)

NCBI Vergi Kimlik Numarası	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

İFADE VE DUYARLILIK

Mutasyon profili

WT1 mutasyon durumu: homozigot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutasyon durumu: heterozigot TCT>TT, p.S45F

İŞLEME VE YETIŞTIRME

Besiyeri

MSCGM kiti (Lonza'dan)

Kuluçka ortamı	37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer.
Ayrıştırma reaktifi	Accutase

Alt kültür oluşturma

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Sıvı değişimi	haftada 1 ila 2 kez

Çözme ve kültürleme

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.

KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

Kısırlık

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

Dondurma ortamı	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Saklama koşulları

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Nakliye koşulları

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

BAĞIŞÇI

Bağışçının yaşı	10 ay
Etnik köken	Kafkas

YASAL VE GÜVENLIK

Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

Malzeme Transfer Anlaşması gereklidir	Yes