imWilms1

300412

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

Клітинна лінія Wilms1 спочатку була отримана з первинної пухлини Вільмса, отриманої від пацієнта з діагнозом великих двосторонніх пухлин нирок, характерних для пухлини Вільмса (нефробластоми). Ця клітинна лінія має гомозиготну нонсенс-мутацію в гені WT1 (c.149 C>A, p.S50X), що призводить до вироблення усіченого, нефункціонального білка WT1. WT1 є критично важливим геном для розвитку нирок, і його мутація тісно пов'язана з патогенезом пухлини Вільмса, особливо в пухлинах, що демонструють стромальну диференціацію. Клітини лінії Wilms1 мають стабільний каріотип без значних хромосомних порушень і характеризуються мезенхімальним фенотипом, експресують віментин, але не мають епітеліальних маркерів, таких як цитокератин. Лінія демонструє обмежену, але значну здатність до мезенхімальної диференціації, включаючи потенційну можливість диференціюватися в м'язові клітини за певних умов, що робить її важливою моделлю для вивчення молекулярних наслідків мутацій WT1.
Щоб подолати обмежену тривалість життя первинних клітин Wilms1, було створено клітинну лінію imWilms1 шляхом введення потрійного мутантного великого Т-антигену SV40 (U19dl89-97tsA58) у вихідні пухлинні клітини, що полегшує їх імморталізацію. Ця модифікація дозволяє клітинам imWilms1 проліферувати нескінченно довго, зберігаючи хромосомну стабільність, пропонуючи таким чином надійну модель для довгострокових досліджень. Імморталізовані клітини imWilms1 продовжують демонструвати ту саму мутацію WT1 і зберігають мезенхімальні характеристики батьківської лінії Wilms1.
На додаток до генетичних та фенотипічних особливостей, клітинна лінія imWilms1 була детально проаналізована на предмет активності сигнальних шляхів. Протеомні дослідження виявили фосфорилювання та активацію декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), включаючи EGFR, PDGFRβ та AXL, з подальшою активацією сигнальних шляхів MAPK. Послідовна активація цих шляхів у клітинах imWilms1 підкреслює їх актуальність для вивчення таргетних терапевтичних стратегій при пухлині Вільмса. В цілому, imWilms1 слугує надійною та довготривалою моделлю для дослідження молекулярних механізмів, що лежать в основі розвитку та прогресування пухлини Вільмса, особливо тих, що зумовлені мутаціями WT1 та аберантними сигнальними шляхами.

Тканина	Нирка
Хвороба	Пухлина Вільмса

Синоніми

- IM-WT-1

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Жінка
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	GMO-S1

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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.

Рівень біобезпеки	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Веретеноподібна форма
Тип клітини	Клітини Вільмса

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

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

imWilms1 (номер за каталогом Cytion 300412)

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	CVCL_A5SN

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Профіль мутацій

Статус мутації WT1: гомозиготний c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, статус мутації CTNNB1: гетерозиготний TCT>TTT, p.S45F

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

Комплект MSCGM (від Lonza)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.
Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Оновлення рідини	1-2 рази на тиждень

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	10 місяців
Етнічна приналежність	Кавказець

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Необхідна угода про передачу матеріалів	Yes