imWilms1

300412

GENERAL INFORMATION

Description

Dòng tế bào Wilms1 ban đầu được phân lập từ một khối u Wilms nguyên phát, lấy từ bệnh nhân được chẩn đoán mắc khối u thận hai bên kích thước lớn, một biểu hiện đặc trưng của u Wilms (nephroblastoma). Dòng tế bào này mang đột biến vô nghĩa đồng hợp tử trong gen WT1 (c.149 C>A, p.S50X), dẫn đến sản xuất protein WT1 bị cắt ngắn và không có chức năng. WT1 là gen quan trọng trong quá trình phát triển thận, và đột biến của nó có liên quan chặt chẽ đến cơ chế bệnh sinh của u Wilms, đặc biệt là trong các khối u có sự biệt hóa mô liên kết. Tế bào Wilms1 có karyotype ổn định mà không có bất thường nhiễm sắc thể đáng kể, và chúng có biểu hiện kiểu hình mô liên kết, biểu hiện vimentin nhưng thiếu các dấu hiệu biểu mô như cytokeratin. Dòng tế bào này có khả năng phân hóa trung mô hạn chế nhưng đáng kể, bao gồm tiềm năng phân hóa thành các tế bào giống cơ dưới điều kiện cụ thể, làm cho nó trở thành mô hình quan trọng để nghiên cứu các hậu quả phân tử của đột biến WT1.
Để khắc phục tuổi thọ hạn chế của các tế bào Wilms1 nguyên phát, dòng tế bào imWilms1 được thiết lập bằng cách đưa vào các tế bào ung thư ban đầu một đột biến ba lần của kháng nguyên T lớn SV40 (U19dl89-97tsA58), giúp chúng trở nên bất tử. Sự sửa đổi này cho phép các tế bào imWilms1 phát triển vô hạn trong khi duy trì sự ổn định nhiễm sắc thể, từ đó cung cấp một mô hình đáng tin cậy cho các nghiên cứu lâu dài. Các tế bào imWilms1 bất tử vẫn duy trì cùng đột biến WT1 và giữ nguyên các đặc điểm trung mô của dòng tế bào Wilms1 ban đầu. Ngoài các đặc điểm di truyền và hình thái, dòng tế bào imWilms1 đã được phân tích kỹ lưỡng về hoạt động của các con đường tín hiệu. Các nghiên cứu proteomics đã phát hiện sự phosphoryl hóa và kích hoạt của một số thụ thể tyrosine kinase (RTKs), bao gồm EGFR, PDGFRβ và AXL, với sự kích hoạt tiếp theo của các con đường tín hiệu MAPK. Sự kích hoạt nhất quán của các con đường này trong các tế bào imWilms1 nhấn mạnh tầm quan trọng của chúng trong việc nghiên cứu các chiến lược điều trị nhắm mục tiêu đối với u Wilms. Nhìn chung, imWilms1 là một mô hình mạnh mẽ và lâu dài để nghiên cứu các cơ chế phân tử cơ bản của sự phát triển và tiến triển của u Wilms, đặc biệt là những cơ chế được thúc đẩy bởi đột biến WT1 và các con đường tín hiệu bất thường.

Tissue	Thận
Disease	U Wilms

Synonyms

- IM-WT-1

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Hình dạng trục
Cell type	Tế bào Wilms

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

IDENTIFIERS

Citation

imWilms1 (Số catalog Cytion 300412)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

Tình trạng đột biến WT1: đồng hợp tử c. 149 C>A, p.S50x, mất dị hợp tử (LOH): 11p11-11pter, Tình trạng đột biến CTNNB1: dị hợp tử TCT>TTT, p.S45F

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

Bộ kit MSCGM (của Lonza)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.
Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Fluid renewal	1 đến 2 lần mỗi tuần

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.
Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Storage conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Shipping conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

DONOR

Donor age	10 tháng
Ethnicity	Người da trắng

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Material Transfer Agreement required	Yes