ImWilms10T

300419

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa imWilms10T jest immortalizowanym wariantem linii komórkowej guza pierwotnego Wilms10T, która została uzyskana z próbki guza Wilmsa (nefroblastoma) u pacjenta pediatrycznego. Ta linia komórkowa wyróżnia się homozygotyczną delecją genu WT1, co skutkuje całkowitą utratą funkcji białka WT1. WT1 jest kluczowym genem dla rozwoju nerek, a jego delecja w imWilms10T odzwierciedla poważne zaburzenie genetyczne, które jest związane z patogenezą guza Wilmsa. Oprócz delecji WT1, komórki imWilms10T wykazują utratę heterozygotyczności (LOH) w regionie chromosomalnym 11p15, który obejmuje kluczowe geny, takie jak IGF2, przyczyniając się do agresywnego zachowania guza.
Aby przezwyciężyć ograniczoną żywotność komórek Wilms10T, utworzono linię komórkową imWilms10T poprzez wprowadzenie potrójnie zmutowanego antygenu SV40 large T (U19dl89-97tsA58) do oryginalnych komórek nowotworowych. Ten proces immortalizacji umożliwia komórkom imWilms10T proliferację w nieskończoność przy jednoczesnym zachowaniu stabilności chromosomalnej, zapewniając w ten sposób niezawodny model do badań długoterminowych. Komórki imWilms10T zachowują krytyczne cechy rodzicielskiej linii Wilms10T, w tym całkowitą utratę WT1 i obecność LOH w 11p15, co czyni je nieocenionym źródłem do badania molekularnych konsekwencji delecji WT1 i związanych z nią procesów nowotworowych.
komórki imWilms10T były intensywnie badane pod kątem ich zaangażowania w kluczowe szlaki sygnałowe, które napędzają progresję nowotworu. Analizy proteomiczne ujawniły, że komórki te wykazują fosforylację i aktywację kilku receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK), takich jak IGF1R, PDGFRβ i AXL. Te aktywowane receptory sygnalizują poprzez dalsze szlaki, w tym szlaki MAPK i PI3K/AKT, które są kluczowe dla utrzymania złośliwego fenotypu komórek. Linia komórkowa imWilms10T służy jako ważne narzędzie do badania wpływu całkowitej utraty WT1 na sygnalizację komórkową, wzrost guza i potencjalne cele terapeutyczne w guzie Wilmsa, szczególnie w przypadku bardziej agresywnych podtypów guza.

Chusteczka	Nerka
Choroba	Guz Wilmsa

Synonimy

- ImWilms10 T
- IM-WT-10

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

GMO-S1: This imWilms10T derivative contains the same triple-mutant SV40 T-antigen enabling conditional immortalization for pediatric kidney tumor biology. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Wrzecionowaty kształt
Typ komórki	Komórki Wilmsa

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

IDENTYFIKATORY

Źródło

ImWilms10T (numer katalogowy Cytion 300419)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_DF34

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Profil mutacji

Status mutacji WT1: homozygotyczna del WT1 w del11p13, LOH: brak w 11p13, ale UPD w 11p15, status mutacji CTNNB1: homozygotyczna del TCT, p.DS45, UPD 3p

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

Zestaw MSCGM (od Lonza)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.
Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Odnawianie płynów	1 do 2 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

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 JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	2 lata
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes