

## клетки imWilms1 | 300412

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия Wilms1 първоначално е получена от първичен тумор на Уилмс, получен от пациент, диагностициран с големи двустранни тумори на бъбреците, което е характерна проява на тумора на Уилмс (нефробластом). Тази клетъчна линия е носител на хомозиготна безсмислена мутация в гена WT1 (с.149 C>A, р.S50X), която води до производството на съкратен, нефункционален протеин WT1. WT1 е критичен ген в развитието на бъбреците и неговата мутация е тясно свързана с патогенезата на тумора на Wilms, особено при тумори, които проявяват стромална диференциация. Клетките на Wilms1 показват стабилен кариотип без значителни хромозомни аномалии и се характеризират с мезенхимен фенотип, като експресират виментин, а липсват епителни маркери като цитокератин. Линията показва ограничена, но значителна способност за мезенхимно диференциране, включително потенциал за диференциране в мускулоподобни клетки при специфични условия, което я прави важен модел за изследване на молекулярните последици от мутациите на WT1.

За да се преодолее ограничената продължителност на живота на първичните клетки Wilms1, беше създадена клетъчната линия imWilms1 чрез въвеждане на тройно мутирал голям Т антиген на SV40 (U19dl89-97tsA58) в оригиналните туморни клетки, което улеснява тяхното безсмъртие. Тази модификация позволява на клетките imWilms1 да се размножават неограничено, като същевременно запазват хромозомната си стабилност, като по този начин предлагат надежден модел за дългосрочни изследвания. Имортализираните клетки imWilms1 продължават да проявяват същата мутация WT1 и запазват мезенхимните характеристики на родителската линия Wilms1.

В допълнение към генетичните и фенотипните си характеристики клетъчната линия imWilms1 е подробно анализирана за активността на сигналните ѝ пътища. Протеомичните изследвания разкриха фосфорилиране и активиране на няколко рецепторни тирозинкинази (RTK), включително EGFR, PDGFR $\beta$  и AXL, с последващо активиране на MAPK сигналните пътища. Последователното активиране на тези пътища в клетките imWilms1 подчертава значението им за проучване на целеви терапевтични стратегии при тумора на Wilms. Като цяло imWilms1 служи като стабилен и дългосрочен модел за изследване на молекулярните механизми, които са в основата на развитието и прогресията на тумора на Wilms, особено на тези, които се дължат на мутации на WT1 и аберантни сигнални пътища.

<b>Organism</b>	Човек
<b>Tissue</b>	Бъбреци
<b>Disease</b>	Тумор на Вилмс
<b>Synonyms</b>	IM-WT-1

## Характеристики

<b>Age</b>	10 месеца
<b>Gender</b>	Жена

## клетки imWilms1 | 300412

<b>Ethnicity</b>	Кавказки
<b>Morphology</b>	С форма на вретено
<b>Cell type</b>	Клетки на Вилмс
<b>Growth properties</b>	Придържачи се

## Регулаторни данни

<b>Citation</b>	imWilms1 (каталожен номер 300412 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A5SN
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Тази линия на човешки тумор на Вилмс imWilms1 съдържа тройно мутирала касета на SV40 Т-антиген, която позволява условно имортализиране за изследване на нефробластом. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

## Биомолекулярни данни

<b>Mutational profile</b>	Статус на мутация на WT1: хомозиготна с. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, статус на мутация на CTNNB1: хетерозиготна TCT>TTT, p.S45F
---------------------------	---

## Работа с

<b>Culture Medium</b>	Комплект MSCGM (от Lonza)
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

**клетки imWilms1 | 300412**

**Subculturing**

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Fluid renewal**

1 до 2 пъти седмично

**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## клетки imWilms1 | 300412

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## клетки imWilms1 | 300412

**Shipping  
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage  
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

**Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA****Sterility**

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

**HLA алели**

**A\***: '03:01:01, '24:02:01  
**B\***: '35:03:01, '38:01:01  
**C\***: '12:03:01  
**DRB1\***: '07:01:01, '14:54:01  
**DQA1\***: '01:04:01, '02:01:01  
**DQB1\***: '02:02:01, '05:03:01  
**DPB1\***: '02:01:02G, '04:02:01G  
**E**: '01:03:01, '01:03:02