

imWilms1 Cells | 300412

Obecné informace

Description

Buněčná linie Wilms1 byla původně odvozena z primárního Wilmsova nádoru získaného od pacienta s diagnózou velkých oboustranných nádorů ledvin, což je charakteristický projev Wilmsova nádoru (nefroblastomu). Tato buněčná linie obsahuje homozygotní nonsense mutaci v genu WT1 (c.149 C>A, p.S50X), která vede k produkci zkráceného, nefunkčního proteinu WT1. WT1 je kritickým genem ve vývoji ledvin a jeho mutace úzce souvisí s patogenezí Wilmsova nádoru, zejména u nádorů vykazujících stromální diferenciaci. Buňky Wilms1 vykazují stabilní karyotyp bez významných chromozomálních abnormalit a vyznačují se mezenchymálním fenotypem, exprimují vimentin a postrádají epiteliální markery, jako je cytokeratin. Tato linie vykazuje omezenou, ale významnou schopnost mezenchymální diferenciaci, včetně potenciálu diferencovat se ve svalové buňky za specifických podmínek, což z ní činí klíčový model pro studium molekulárních důsledků mutací WT1.

K překonání omezené životnosti primárních buněk Wilms1 byla vytvořena buněčná linie imWilms1 zavedením trojnásobně mutovaného velkého antigenu SV40 T (U19dl89-97tsA58) do původních nádorových buněk, což usnadnilo jejich immortalizaci. Tato modifikace umožňuje buňkám imWilms1 neomezenou proliferaci při zachování chromozomální stability, a nabízí tak spolehlivý model pro dlouhodobé studie. Immortalizované buňky imWilms1 nadále vykazují stejnou mutaci WT1 a zachovávají si mezenchymální vlastnosti mateřské linie Wilms1.

Kromě genetických a fenotypových vlastností byla buněčná linie imWilms1 podrobena rozsáhlé analýze z hlediska aktivity signálních drah. Proteomické studie odhalily fosforylaci a aktivaci několika receptorových tyrozinkináz (RTK), včetně EGFR, PDGFR β a AXL, s následnou aktivací signálních drah MAPK. Důsledná aktivace těchto drah v buňkách imWilms1 podtrhuje jejich význam pro zkoumání cílených terapeutických strategií u Wilmsova nádoru. Celkově lze říci, že buňky imWilms1 slouží jako robustní a dlouhodobý model pro zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem vývoje a progresu Wilmsova nádoru, zejména těch, které jsou způsobeny mutacemi WT1 a aberantními signálními drahami.

Organism Člověk

Tissue Ledviny

Disease Wilmsův nádor

Synonyms IM-WT-1

Charakteristika

Age 10 měsíců

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Morphology Vřetenovitý tvar

imWilms1 Cells | 300412

Cell type Wilmsovy buňky**Growth properties** Adherentní

Regulační údaje

Citation imWilms1 (katalogové číslo Cytion 300412)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SN**Depositor** B. Royer-Pokora**GMO Status** GMO-S1: Tato linie lidského Wilmsova nádoru imWilms1 obsahuje kazetu s trojnásobně mutovaným T-antigenem SV40, která umožňuje podmíněnou imortalizaci pro výzkum nefroblastomu. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Mutational profile Stav mutace WT1: homozygotní c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, stav mutace CTNNB1: heterozygotní TCT>TTT, p.S45F

Zpracování

Culture Medium Souprava MSCGM (od společnosti Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Fluid renewal** 1 až 2krát týdně

imWilms1 Cells | 300412**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

imWilms1 Cells | 300412**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11,13
D16S539: 11,14
D5S818: 12,13,14
D7S820: 9,14
TH01: 9.3
TPOX: 8,9
vWA: 14,19
D3S1358: 14,17,18
D21S11: 30,31
D18S51: 15,18
Penta E: 5,14
Penta D: 13
D8S1179: 12,14
FGA: 22,25

Alely HLA

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