

imWilms1-celler | 300412

Generel information

Description

Wilms1-cellelinjen stammer oprindeligt fra en primær Wilms-tumor fra en patient, der blev diagnosticeret med store bilaterale nyretumorer, en karakteristisk præsentation af Wilms-tumor (nefroblastom). Denne cellelinje har en homozygot nonsensmutation i WT1-genet (c.149 C>A, p.S50X), hvilket fører til produktion af et afkortet, ikke-funktionelt WT1-protein. WT1 er et kritisk gen i nyreudviklingen, og dets mutation er tæt forbundet med patogenesen af Wilms-tumor, især i tumorer, der udviser stromal differentiering. Wilms1-celler har en stabil karyotype uden væsentlige kromosomale abnormiteter, og de er kendetegnet ved en mesenkymfænotype, der udtrykker vimentin, mens de mangler epitelmarkører som cytokeratin. Linjen viser en begrænset, men betydelig kapacitet til mesenkymal differentiering, herunder potentialet til at differentiere til muskellignende celler under specifikke forhold, hvilket gør den til en vigtig model til undersøgelse af de molekylære konsekvenser af WT1-mutationer.

For at overvinde den begrænsede levetid for de primære Wilms1-celler blev imWilms1-cellelinjen etableret ved at indføre et tredobbelt muteret SV40 stort T-antigen (U19dl89-97tsA58) i de oprindelige tumorceller, hvilket letter deres udødelighed. Denne modifikation gør det muligt for imWilms1-celler at formere sig på ubestemt tid, samtidig med at kromosomstabiliteten opretholdes, hvilket giver en pålidelig model til langtidsstudier. De udødelige imWilms1-celler udviser fortsat den samme WT1-mutation og bevarer de mesenkymale egenskaber ved den oprindelige Wilms1-linje.

Ud over sine genetiske og fænotypiske egenskaber er imWilms1-cellelinjen blevet grundigt analyseret for sin signalvejsaktivitet. Proteomiske undersøgelser har afsløret fosforylering og aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er), herunder EGFR, PDGFR β og AXL, med downstream-aktivering af MAPK-signalvejene. Den konsekvente aktivering af disse veje i imWilms1-celler understreger deres relevans for at udforske målrettede terapeutiske strategier i Wilms-tumor. Alt i alt fungerer imWilms1 som en robust og langsigtet model til undersøgelse af de molekylære mekanismer, der ligger til grund for udvikling og progression af Wilms-tumorer, især dem, der er drevet af WT1-mutationer og afvigende signalveje.

Organism Menneske

Tissue Nyre

Disease Wilms-tumor

Synonyms IM-WT-1

Karakteristika

Age 10 måneder

Gender Kvinde

Ethnicity Kaukasisk

imWilms1-celler | 300412

Morphology Spindelformet

Cell type Wilms-celler

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation imWilms1 (Cytion-katalognummer 300412)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SN

GMO Status GMO-S1: Denne imWilms1 humane Wilms-tumorlinje indeholder en tredobbelt mutant SV40 T-antigenkassette, der muliggør betinget immortalisering til forskning i nefroblastom. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Mutational profile WT1-mutationsstatus: homozygot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: heterozygot TCT>TTT, p.S45F

Håndtering

Culture Medium MSCGM-kit (fra Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Fluid renewal 1 til 2 gange om ugen

imWilms1-celler | 300412

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

imWilms1-celler | 300412

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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