

**imWilms1 Κύτταρα | 300412****Γενικές πληροφορίες****Description**

Η κυτταρική σειρά Wilms1 προήλθε αρχικά από έναν πρωτοπαθή όγκο Wilms, ο οποίος προήλθε από ασθενή που διαγνώστηκε με μεγάλους αμφοτερόπλευρους νεφρικούς όγκους, μια χαρακτηριστική παρουσίαση του όγκου Wilms (νεφροβλάστωμα). Αυτή η κυτταρική σειρά φέρει μια ομόζυγη μετάλλαξη nonsense στο γονίδιο WT1 (c.149 C>A, p.S50X), που οδηγεί στην παραγωγή μιας κουτσουρεμένης, μη λειτουργικής πρωτεΐνης WT1. Το WT1 είναι ένα κρίσιμο γονίδιο στην ανάπτυξη των νεφρών και η μετάλλαξη του συνδέεται στενά με την παθογένεια του όγκου Wilms, ιδίως σε όγκους που παρουσιάζουν στρωματική διαφοροποίηση. Τα κύτταρα Wilms1 εμφανίζουν σταθερό καρυότυπο χωρίς σημαντικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες και χαρακτηρίζονται από μεσεγχυματικό φαινότυπο, εκφράζοντας βιμεντίνη, ενώ στερούνται επιθηλιακών δεικτών όπως η κυτταροκερατίνη. Η γραμμή παρουσιάζει περιορισμένη αλλά σημαντική ικανότητα μεσεγχυματικής διαφοροποίησης, συμπεριλαμβανομένης της δυνατότητας διαφοροποίησης σε μυϊκά κύτταρα υπό συγκεκριμένες συνθήκες, καθιστώντας την ένα κρίσιμο μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών συνεπειών των μεταλλάξεων του WT1.

Για να ξεπεραστεί η περιορισμένη διάρκεια ζωής των πρωτογενών κυττάρων Wilms1, δημιουργήθηκε η κυτταρική σειρά imWilms1 με την εισαγωγή ενός τριπλά μεταλλαγμένου αντιγόνου SV40 large T (U19dl89-97tsA58) στα αρχικά καρκινικά κύτταρα, διευκολύνοντας την αθανασία τους. Η τροποποίηση αυτή επιτρέπει στα κύτταρα imWilms1 να πολλαπλασιάζονται επ' αόριστον, διατηρώντας παράλληλα τη χρωμοσωμική σταθερότητα, προσφέροντας έτσι ένα αξιόπιστο μοντέλο για μακροχρόνιες μελέτες. Τα αθάνατα κύτταρα imWilms1 συνεχίζουν να εμφανίζουν την ίδια μετάλλαξη WT1 και διατηρούν τα μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά της γονικής σειράς Wilms1.

Εκτός από τα γενετικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της, η κυτταρική σειρά imWilms1 έχει αναλυθεί εκτενώς ως προς τη δραστηριότητα των σηματοδοτικών μονοπατιών της. Οι πρωτεομικές μελέτες αποκάλυψαν τη φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση διαφόρων κινάσων τυροσίνης υποδοχέα (RTKs), συμπεριλαμβανομένων των EGFR, PDGFRβ και AXL, με επακόλουθη ενεργοποίηση των σηματοδοτικών μονοπατιών MAPK. Η συνεπής ενεργοποίηση αυτών των μονοπατιών στα κύτταρα imWilms1 υπογραμμίζει τη σημασία τους για τη διερεύνηση στοχευμένων θεραπευτικών στρατηγικών στον όγκο Wilms. Συνολικά, το imWilms1 χρησιμεύει ως ένα ισχυρό και μακροπρόθεσμο μοντέλο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την ανάπτυξη και την εξέλιξη του όγκου Wilms, ιδίως εκείνων που οδηγούνται από μεταλλάξεις του WT1 και ανώμαλα μονοπάτια σηματοδότησης.

**Organism** Ανθρώπινο**Tissue** Νεφρός**Disease** Όγκος Wilms**Synonyms** IM-WT-1**Χαρακτηριστικά****Age** 10 μήνες

## imWilms1 Κύτταρα | 300412

<b>Gender</b>	Γυναίκα
<b>Ethnicity</b>	Καυκάσιος
<b>Morphology</b>	Ατρακτοειδές σχήμα
<b>Cell type</b>	Κύτταρα Wilms
<b>Growth properties</b>	Προσκολλημένο

## Ρυθμιστικά δεδομένα

<b>Citation</b>	imWilms1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300412)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A5SN
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Αυτή η ανθρώπινη γραμμή όγκου Wilms imWilms1 περιέχει μια τριπλά μεταλλαγμένη κασέτα SV40 T-αντιγόνου που επιτρέπει την υπό όρους αθανασία για την έρευνα του νεφροβλαστώματος. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

## Βιομοριακά δεδομένα

<b>Mutational profile</b>	Κατάσταση μετάλλαξης WT1: ομοζυγωτική c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, κατάσταση μετάλλαξης CTNNB1: ετεροζυγωτική TCT>TTT, p.S45F
---------------------------	---

## Χειρισμός

<b>Culture Medium</b>	Κιτ MSCGM (από τη Lonza)
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

**imWilms1 Κύτταρα | 300412****Subculturing**

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

**Fluid renewal**

1 έως 2 φορές την εβδομάδα

**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

## imWilms1 Κύτταρα | 300412

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating** Κανένα

**Freezing Procedure** Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Shipping Conditions** Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions** Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

**Sterility** Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**HLA αλληλόμορφα**

**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