

sel imWilms1 | 300412

Informasi umum

Description

Garis sel Wilms1 pada awalnya berasal dari tumor Wilms primer, yang diperoleh dari pasien yang didiagnosis dengan tumor ginjal bilateral besar, suatu presentasi karakteristik tumor Wilms (nefroblastoma). Garis sel ini memiliki mutasi omong kosong homozigot pada gen WT1 (c.149 C>A, p.S50X), yang mengarah pada produksi protein WT1 yang terpotong dan tidak berfungsi. WT1 adalah gen penting dalam perkembangan ginjal, dan mutasinya terkait erat dengan patogenesis tumor Wilms, terutama pada tumor yang menunjukkan diferensiasi stroma. Sel Wilms1 menunjukkan kariotipe yang stabil tanpa kelainan kromosom yang signifikan, dan ditandai dengan fenotipe mesenkim, mengekspresikan vimentin namun tidak memiliki penanda epitel seperti sitokeratin. Garis ini menunjukkan kapasitas diferensiasi mesenkim yang terbatas namun signifikan, termasuk potensi untuk berdiferensiasi menjadi sel mirip otot dalam kondisi tertentu, menjadikannya model penting untuk mempelajari konsekuensi molekuler mutasi WT1.

Untuk mengatasi keterbatasan umur sel Wilms1 primer, garis sel imWilms1 dibuat dengan memasukkan antigen T besar SV40 mutan tiga kali lipat (U19dl89-97tsA58) ke dalam sel tumor asli, yang memfasilitasi pengabadiannya. Modifikasi ini memungkinkan sel imWilms1 untuk berkembang biak tanpa batas waktu dengan tetap mempertahankan stabilitas kromosom, sehingga menawarkan model yang dapat diandalkan untuk studi jangka panjang. Sel imWilms1 yang diabadikan terus menunjukkan mutasi WT1 yang sama dan mempertahankan karakteristik mesenkim dari garis induk Wilms1.

Selain fitur genetik dan fenotipiknya, garis sel imWilms1 telah dianalisis secara ekstensif untuk aktivitas jalur pensinyalannya. Studi proteomik telah mengungkapkan fosforilasi dan aktivasi beberapa reseptor tirosin kinase (RTK), termasuk EGFR, PDGFR β , dan AXL, dengan aktivasi hilir jalur pensinyalan MAPK. Aktivasi yang konsisten dari jalur ini dalam sel imWilms1 menggarisbawahi relevansinya untuk mengeksplorasi strategi terapi yang ditargetkan pada tumor Wilms. Secara keseluruhan, imWilms1 berfungsi sebagai model yang kuat dan berjangka panjang untuk menyelidiki mekanisme molekuler yang mendasari perkembangan dan perkembangan tumor Wilms, terutama yang didorong oleh mutasi WT1 dan jalur pensinyalan yang menyimpang.

Organism Manusia

Tissue Ginjal

Disease Tumor Wilms

Synonyms IM-WT-1

Karakteristik

Age 10 bulan

Gender Perempuan

Ethnicity Kaukasia

sel imWilms1 | 300412

Morphology Berbentuk gelendong

Cell type Sel Wilms

Growth properties Patuh

Data Peraturan

Citation imWilms1 (nomor katalog Cytion 300412)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SN

GMO Status GMO-S1: Garis tumor Wilms manusia imWilms1 ini mengandung kaset antigen T-antigen SV40 mutan tiga yang memungkinkan pengawetan bersyarat untuk penelitian nefroblastoma. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Mutational profile Status mutasi WT1: homozigot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, status mutasi CTNNB1: heterozigot TCT>TTT, p.S45F

Penanganan

Culture Medium Kit MSCGM (dari Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Fluid renewal 1 hingga 2 kali per minggu

sel imWilms1 | 300412

Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

sel imWilms1 | 300412

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Alel 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