

imWilms1 Cellen | 300412

Algemene informatie

Description

De Wilms1-celijn is oorspronkelijk afgeleid van een primaire Wilms-tumor, verkregen van een patiënt bij wie grote bilaterale niertumoren werden vastgesteld, een karakteristieke verschijningsvorm van Wilms-tumor (nefroblastoom). Deze celijn bevat een homozygote nonsensmutatie in het WT1-gen (c.149 C>A, p.S50X), wat leidt tot de productie van een afgekapt, niet-functioneel WT1-eiwit. WT1 is een cruciaal gen in de ontwikkeling van de nier en de mutatie is nauw geassocieerd met de pathogenese van Wilms tumor, vooral in tumoren met stromale differentiatie. Wilms1-cellen hebben een stabiel karyotype zonder significante chromosoomafwijkingen en worden gekenmerkt door een mesenchymaal fenotype, waarbij vimentine tot expressie komt en epitheliale markers zoals cytokeratine ontbreken. De lijn vertoont een beperkte maar significante capaciteit voor mesenchymale differentiatie, inclusief de mogelijkheid om te differentiëren in spierachtige cellen onder specifieke omstandigheden, waardoor het een cruciaal model is voor het bestuderen van de moleculaire gevolgen van WT1-mutaties.

Om de beperkte levensduur van de primaire Wilms1-cellen te overwinnen, werd de imWilms1-celijn gemaakt door een drievoudig gemuteerd SV40-groot T-antigeen (U19dl89-97tsA58) in de oorspronkelijke tumorcellen te introduceren, waardoor hun immortalisatie werd vergemakkelijkt. Door deze modificatie kunnen imWilms1-cellen zich onbeperkt vermenigvuldigen met behoud van chromosomale stabiliteit, waardoor ze een betrouwbaar model vormen voor langetermijnstudies. De geïmmortaliseerde imWilms1 cellen blijven dezelfde WT1 mutatie vertonen en behouden de mesenchymale kenmerken van de ouder Wilms1 lijn.

Naast de genetische en fenotypische kenmerken is de imWilms1 celijn uitgebreid geanalyseerd op zijn signaalwegactiviteit. Proteomische studies hebben de fosforylering en activering van verschillende receptortyrosinekinasen (RTK's) aangetoond, waaronder EGFR, PDGFR β en AXL, met downstream activering van de MAPK-signalroutes. De consistente activering van deze pathways in imWilms1 cellen onderstreept hun relevantie voor het verkennen van gerichte therapeutische strategieën in Wilms tumor. Over het geheel genomen dient imWilms1 als een robuust en langdurig model voor het onderzoeken van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling en progressie van Wilms tumoren, met name die welke worden aangedreven door WT1-mutaties en afwijkende signaalroutes.

Organism

Mens

Tissue

Nieren

Disease

Wilms tumor

Synonyms

IM-WT-1

Kenmerken

Age

10 maanden

Gender

Vrouw

Ethnicity

Kaukasisch

imWilms1 Cellen | 300412

Morphology Spilvormig

Cell type Wilms cellen

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation imWilms1 (Cytion catalogusnummer 300412)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SN

Depositor B. Royer-Pokora

GMO Status GMO-S1: Deze imWilms1 menselijke Wilms tumorlijn bevat een triple-mutant SV40 T-antigen cassette die voorwaardelijke immortalisatie voor nefroblastoom onderzoek mogelijk maakt. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile WT1 mutatiestatus: homozygoot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatiestatus: heterozygoot TCT>TTT, p.S45F

Omgaan met

Culture Medium MSCGM-kit (van Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

imWilms1 Cellen | 300412

Fluid renewal 1 tot 2 keer per week

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

imWilms1 Cellen | 300412

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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

imWilms1 Cellen | 300412

HLA-allelen

- 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