

imWilms1 Celler | 300412

Allmän information

Description

Wilms1-cellinjen härrör ursprungligen från en primär Wilms-tumör, som erhöles från en patient som diagnostiserats med stora bilaterala njurtumörer, en karakteristisk bild av Wilms-tumör (nefroblastom). Denna cellinje har en homozygot nonsensmutation i WT1-genen (c.149 C>A, p.S50X), vilket leder till produktion av ett trunkeerat, icke-funktionellt WT1-protein. WT1 är en kritisk gen för njurarnas utveckling och dess mutation är nära förknippad med patogenesen för Wilms tumör, särskilt i tumörer som uppvisar stromal differentiering. Wilms1-cellerna uppvisar en stabil karyotyp utan signifikanta kromosomavvikelser och de kännetecknas av en mesenkymal fenotyp som uttrycker vimentin men saknar epiteliala markörer som cytokeratin. Linjen uppvisar en begränsad men signifikant kapacitet för mesenkymal differentiering, inklusive potentialen att differentieras till muskelliknande celler under specifika förhållanden, vilket gör den till en viktig modell för att studera de molekylära konsekvenserna av WT1-mutationer.

För att övervinna den begränsade livslängden hos de primära Wilms1-cellerna etablerades imWilms1-cellinjen genom att införa en trippelmutant SV40 large T-antigen (U19dl89-97tsA58) i de ursprungliga tumörcellerna, vilket underlättade deras odödighet. Denna modifiering gör att imWilms1-cellerna kan föröka sig på obestämd tid med bibehållen kromosomstabilitet, vilket ger en tillförlitlig modell för långtidsstudier. De odödliga imWilms1-cellerna fortsätter att uppvisa samma WT1-mutation och bibehåller de mesenkymala egenskaperna hos den ursprungliga Wilms1-linjen.

Förutom de genetiska och fenotypiska egenskaperna har imWilms1-cellinjen analyserats ingående med avseende på dess signalvägsaktivitet. Proteomiska studier har visat på fosforylering och aktivering av flera receptortyrosinkinaser (RTK), inklusive EGFR, PDGFR β och AXL, med nedströmsaktivering av MAPK-signalvägarna. Den konsekventa aktiveringen av dessa signalvägar i imWilms1-celler understryker deras relevans för att utforska riktade terapeutiska strategier för Wilms tumör. Sammantaget fungerar imWilms1 som en robust och långsiktig modell för att undersöka de molekylära mekanismer som ligger till grund för utveckling och progression av Wilms-tumörer, särskilt sådana som drivs av WT1-mutationer och avvikande signalvägar.

Organism Människan

Tissue Njurar

Disease Wilms tumör

Synonyms IM-WT-1

Egenskaper

Age 10 månader

Gender Kvinna

Ethnicity Kaukasisk

imWilms1 Celler | 300412

Morphology Spindelformad

Cell type Wilms-celler

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation imWilms1 (Cytion katalognummer 300412)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SN

Depositor B. Royer-Pokora

GMO Status GMO-S1: Denna imWilms1 humana Wilms-tumörinje innehåller en trippelmutant SV40 T-antigenkassett som möjliggör villkorlig immortalisering för nefroblastomforskning. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

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

Hantering

Culture Medium MSCGM-kit (från Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

imWilms1 Celler | 300412**Fluid renewal** 1 till 2 gånger per vecka**Freeze medium**

Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.**Flask Coating**

Ingen

imWilms1 Celler | 300412

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma kontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma diagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

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 Celler | 300412

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