

клітини imWilms1 | 300412

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія Wilms1 спочатку була отримана з первинної пухлини Вільмса, отриманої від пацієнта з діагнозом великих двосторонніх пухлин нирок, характерних для пухлини Вільмса (нефробластоми). Ця клітинна лінія має гомозиготну нонсенс-мутацію в гені WT1 (с.149 C>A, р.S50X), що призводить до вироблення усіченого, нефункціонального білка WT1. WT1 є критично важливим геном для розвитку нирок, і його мутація тісно пов'язана з патогенезом пухлини Вільмса, особливо в пухлинах, що демонструють стромальну диференціацію. Клітини лінії Wilms1 мають стабільний каріотип без значних хромосомних порушень і характеризуються мезенхімальним фенотипом, експресують віментин, але не мають епітеліальних маркерів, таких як цитокератин. Лінія демонструє обмежену, але значну здатність до мезенхімальної диференціації, включаючи потенційну можливість диференціюватися в м'язові клітини за певних умов, що робить її важливою моделлю для вивчення молекулярних наслідків мутацій WT1.

Для подолання обмеженої тривалості життя первинних клітин Wilms1 була створена клітинна лінія imWilms1 шляхом введення потрібного мутантного великого Т-антигену SV40 (U19dl89-97tsA58) у вихідні пухлинні клітини, що полегшує їхню іморталізацію. Ця модифікація дозволяє клітинам imWilms1 проліферувати нескінченно довго, зберігаючи хромосомну стабільність, пропонуючи таким чином надійну модель для довгострокових досліджень. Іморталізовані клітини imWilms1 продовжують демонструвати ту саму мутацію WT1 і зберігають мезенхімальні характеристики батьківської лінії Wilms1.

На додаток до генетичних та фенотипічних особливостей, клітинна лінія imWilms1 була детально проаналізована на предмет активності сигнальних шляхів. Протеомні дослідження виявили фосфорилування та активацію декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), включаючи EGFR, PDGFR β та AXL, з подальшою активацією сигнальних шляхів MAPK. Послідовна активація цих шляхів у клітинах imWilms1 підкреслює їх актуальність для вивчення таргетних терапевтичних стратегій при пухлині Вільмса. В цілому, imWilms1 слугує надійною та довготривалою моделлю для дослідження молекулярних механізмів, що лежать в основі розвитку та прогресування пухлини Вільмса, особливо тих, що зумовлені мутаціями WT1 та аберантними сигнальними шляхами.

Organism Людина

Tissue Нирка

Disease Пухлина Вільмса

Synonyms IM-WT-1

Характеристики

Age 10 місяців

Gender Жінка

Ethnicity Кавказець

клітини imWilms1 | 300412

Morphology Веретеноподібна форма

Cell type Клітини Вільмса

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation imWilms1 (номер за каталогом Cytion 300412)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SN

GMO Status ГМО-S1: Ця лінія пухлини Вільмса людини imWilms1 містить потрібну мутантну касету Т-антигену SV40, що дозволяє проводити умовну іморталізацію для дослідження нефробластоми. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Mutational profile Статус мутації WT1: гомозиготний с. 149 C>A, р.S50х, LOH: 11p11-11pter, статус мутації CTNNB1: гетерозиготний TCT>TTT, р.S45F

Обробка

Culture Medium Комплект MSCGM (від Lonza)

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

клітини imWilms1 | 300412

Fluid renewal 1-2 рази на тиждень

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

клітини imWilms1 | 300412

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA**Sterility**

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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