

Células ImWilms10T | 300419

Información general

Description

La línea celular imWilms10T es una variante inmortalizada de la línea celular de tumor primario Wilms10T, derivada de una muestra de tumor de Wilms (nefroblastoma) de un paciente pediátrico. Esta línea celular se distingue por una delección homocigota del gen WT1, que provoca una pérdida completa de la función de la proteína WT1. WT1 es un gen crucial para el desarrollo renal, y su delección en imWilms10T refleja una alteración genética grave que está asociada a la patogénesis del tumor de Wilms. Además de la delección de WT1, las células imWilms10T presentan pérdida de heterocigosidad (LOH) en la región cromosómica 11p15, que incluye genes clave como IGF2, lo que contribuye al comportamiento agresivo del tumor.

Para superar la limitada vida útil de las células Wilms10T, se estableció la línea celular imWilms10T introduciendo un antígeno SV40 gran T triple mutante (U19dl89-97tsA58) en las células tumorales originales. Este proceso de inmortalización permite a las células imWilms10T proliferar indefinidamente manteniendo la estabilidad cromosómica, lo que proporciona un modelo fiable para estudios a largo plazo. Las células imWilms10T conservan las características críticas de la línea Wilms10T parental, incluyendo la pérdida completa de WT1 y la presencia de LOH en 11p15, lo que las convierte en un recurso inestimable para estudiar las consecuencias moleculares de la delección de WT1 y los procesos tumorigénicos asociados.

Las células imWilms10T han sido ampliamente estudiadas por su implicación en vías de señalización clave que impulsan la progresión tumoral. Los análisis proteómicos han revelado que estas células presentan fosforilación y activación de varios receptores tirosina quinasa (RTK), como IGF1R, PDGFR β y AXL. Estos receptores activados señalizan a través de vías descendentes, incluidas las vías MAPK y PI3K/AKT, que son cruciales para mantener el fenotipo maligno de las células. La línea celular imWilms10T es una herramienta importante para investigar el impacto de la pérdida completa de WT1 en la señalización celular, el crecimiento tumoral y las posibles dianas terapéuticas en el tumor de Wilms, especialmente en los subtipos tumorales más agresivos.

Organism Humano

Tissue Riñón

Disease Tumor de Wilms

Synonyms ImWilms10 T, IM-WT-10

Características

Age 2 años

Gender Mujer

Ethnicity Caucásico

Morphology En forma de huso

Células ImWilms10T | 300419

Cell type Células de Wilms

Growth properties Adherente

Datos reglamentarios

Citation ImWilms10T (número de catálogo Cytion 300419)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_DF34

Depositor B. Royer-Pokora

GMO Status GMO-S1: Este derivado imWilms10T contiene el mismo antígeno T SV40 triple mutante que permite la inmortalización condicional para la biología de tumores renales pediátricos. Esta clasificación solo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Mutational profile Estado de la mutación WT1: homocigoto del WT1 dentro de del11p13, LOH: no en 11p13 pero UPD en 11p15, Estado de la mutación CTNNB1: homocigoto del TCT, p.DS45, UPD 3p

Manejo de

Culture Medium Kit MSCGM (de Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Células ImWilms10T | 300419

Fluid renewal 1 ó 2 veces por semana

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmósfera humidificada.

Flask Coating Ninguno

Células ImWilms10T | 300419

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,12
D16S539: 9,10
D5S818: 10,12
D7S820: 11,12
TH01: 8,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,18
D3S1358: 17,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,16
Penta E: 7,10
Penta D: 10,13
D8S1179: 10,15
FGA: 22,24

Células ImWilms10T | 300419

Alelos HLA

A*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '18:01:01, '27:05:02
C*: '01:02:01, '12:03:01
DRB1*: '01:01:01, '11:04:01
DQA1*: '01:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01