

imWilms1 Células | 300412

Información general

Description

La línea celular Wilms1 se derivó originalmente de un tumor de Wilms primario, obtenido de un paciente diagnosticado de grandes tumores renales bilaterales, una presentación característica del tumor de Wilms (nefroblastoma). Esta línea celular alberga una mutación homocigota sin sentido en el gen WT1 (c.149 C>A, p.S50X), que conduce a la producción de una proteína WT1 truncada y no funcional. WT1 es un gen crítico en el desarrollo renal, y su mutación está estrechamente asociada con la patogénesis del tumor de Wilms, particularmente en tumores que exhiben diferenciación estromal. Las células Wilms1 muestran un cariotipo estable sin anomalías cromosómicas significativas, y se caracterizan por un fenotipo mesenquimal, expresando vimentina mientras carecen de marcadores epiteliales como la citoqueratina. La línea muestra una capacidad limitada pero significativa de diferenciación mesenquimal, incluido el potencial de diferenciarse en células de tipo muscular en condiciones específicas, lo que la convierte en un modelo crucial para estudiar las consecuencias moleculares de las mutaciones de WT1.

Para superar la limitada vida útil de las células Wilms1 primarias, se estableció la línea celular imWilms1 introduciendo un antígeno SV40 gran T triple mutante (U19dl89-97tsA58) en las células tumorales originales, facilitando su immortalización. Esta modificación permite a las células imWilms1 proliferar indefinidamente manteniendo la estabilidad cromosómica, ofreciendo así un modelo fiable para estudios a largo plazo. Las células imWilms1 immortalizadas siguen presentando la misma mutación WT1 y conservan las características mesenquimales de la línea Wilms1 progenitora.

Además de sus características genéticas y fenotípicas, la línea celular imWilms1 ha sido ampliamente analizada en cuanto a su actividad en la vía de señalización. Los estudios proteómicos han revelado la fosforilación y activación de varios receptores tirosina quinasa (RTKs), incluyendo EGFR, PDGFR β y AXL, con activación de las vías de señalización MAPK. La consistente activación de estas vías en las células imWilms1 subraya su relevancia para explorar estrategias terapéuticas dirigidas en el tumor de Wilms. En general, imWilms1 sirve como modelo robusto y a largo plazo para investigar los mecanismos moleculares que subyacen al desarrollo y la progresión del tumor de Wilms, en particular los impulsados por mutaciones WT1 y vías de señalización aberrantes.

Organism Humano

Tissue Riñón

Disease Tumor de Wilms

Synonyms IM-WT-1

Características

Age 10 meses

Gender Mujer

Ethnicity Caucásico

imWilms1 Células | 300412**Morphology** En forma de huso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios****Citation** imWilms1 (número de catálogo 300412 de Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SN**Depositor** B. Royer-Pokora**GMO Status** GMO-S1: Esta línea de tumor de Wilms humano imWilms1 contiene un casete de antígeno T SV40 triple mutante que permite la inmortalización condicional para la investigación del nefroblastoma. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.**Datos biomoleculares****Mutational profile** Estado de la mutación WT1: homocigota c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, Estado de la mutación CTNNB1: heterocigota TCT>TTT, p.S45F**Manejo de****Culture Medium** Kit MSCGM (de Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase

imWilms1 Células | 300412

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.

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.

imWilms1 Células | 300412

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmósfera humidificada.

Flask Coating Ninguno

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: 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 Células | 300412

Alelos 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