

ImWilms10T Celle | 300419**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare imWilms10T è una variante immortalizzata della linea cellulare tumorale primaria Wilms10T, derivata da un campione di tumore di Wilms (nefroblastoma) di un paziente pediatrico. Questa linea cellulare è caratterizzata da una delezione omozigote del gene WT1, con conseguente perdita completa della funzione della proteina WT1. WT1 è un gene cruciale per lo sviluppo del rene e la sua delezione in imWilms10T riflette una grave alterazione genetica associata alla patogenesi del tumore di Wilms. Oltre alla delezione di WT1, le cellule imWilms10T presentano una perdita di eterozigosi (LOH) nella regione cromosomica 11p15, che include geni chiave come IGF2, contribuendo al comportamento aggressivo del tumore.

Per superare la durata limitata delle cellule Wilms10T, è stata creata la linea cellulare imWilms10T introducendo un triplo mutante dell'antigene SV40 large T (U19dl89-97tsA58) nelle cellule tumorali originali. Questo processo di immortalizzazione consente alle cellule imWilms10T di proliferare indefinitamente mantenendo la stabilità cromosomica, fornendo così un modello affidabile per studi a lungo termine. Le cellule imWilms10T mantengono le caratteristiche critiche della linea Wilms10T parentale, tra cui la perdita completa di WT1 e la presenza di LOH a 11p15, che le rendono una risorsa inestimabile per lo studio delle conseguenze molecolari della delezione di WT1 e dei processi tumorigenici associati.

Le cellule imWilms10T sono state ampiamente studiate per il loro coinvolgimento in vie di segnalazione chiave che guidano la progressione tumorale. Le analisi proteomiche hanno rivelato che queste cellule presentano la fosforilazione e l'attivazione di diverse tirosin-chinasi recettoriali (RTK), come IGF1R, PDGFR β e AXL. Questi recettori attivati segnalano attraverso vie a valle, tra cui le vie MAPK e PI3K/AKT, che sono cruciali per il mantenimento del fenotipo maligno delle cellule. La linea cellulare imWilms10T è uno strumento importante per studiare l'impatto della perdita completa di WT1 sulla segnalazione cellulare, sulla crescita tumorale e sui potenziali bersagli terapeutici del tumore di Wilms, in particolare per i sottotipi tumorali più aggressivi.

Organism Umano**Tissue** Rene**Disease** Tumore di Wilms**Synonyms** ImWilms10 T, IM-WT-10**Caratteristiche****Age** 2 anni**Gender** Donna**Ethnicity** Caucastico**Morphology** A forma di fuso

ImWilms10T Celle | 300419**Cell type** Cellule di Wilms**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** ImWilms10T (numero di catalogo Cytion 300419)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DF34**Depositor** B. Royer-Pokora**GMO Status** GMO-S1: questo derivato imWilms10T contiene lo stesso T-antigene SV40 triplo mutante che consente l'immortalizzazione condizionale per la biologia dei tumori renali pediatrici. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.**Dati biomolecolari****Mutational profile** Stato di mutazione WT1: omozigote del WT1 all'interno del11p13, LOH: no in 11p13 ma UPD in 11p15, stato di mutazione CTNNB1: omozigote del TCT, p.DS45, UPD 3p**Manipolazione****Culture Medium** Kit MSCGM (da Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Fluid renewal** da 1 a 2 volte alla settimana

ImWilms10T Celle | 300419

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

ImWilms10T Celle | 300419

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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