

imWilms1 Celle | 300412

Informazioni generali

Description

La linea cellulare Wilms1 è stata originariamente derivata da un tumore di Wilms primario, ottenuto da un paziente a cui era stato diagnosticato un grande tumore renale bilaterale, una presentazione caratteristica del tumore di Wilms (nefroblastoma). Questa linea cellulare presenta una mutazione omozigote nonsense nel gene WT1 (c.149 C>A, p.S50X), che porta alla produzione di una proteina WT1 tronca e non funzionale. WT1 è un gene critico nello sviluppo del rene e la sua mutazione è strettamente associata alla patogenesi del tumore di Wilms, in particolare nei tumori che presentano una differenziazione stromale. Le cellule Wilms1 presentano un cariotipo stabile senza anomalie cromosomiche significative e sono caratterizzate da un fenotipo mesenchimale, che esprime la vimentina e manca di marcatori epiteliali come la citocheratina. La linea mostra una capacità limitata ma significativa di differenziazione mesenchimale, compreso il potenziale di differenziazione in cellule simili ai muscoli in condizioni specifiche, che la rende un modello cruciale per lo studio delle conseguenze molecolari delle mutazioni WT1.

Per superare la durata limitata delle cellule Wilms1 primarie, è stata creata la linea cellulare imWilms1 introducendo un triplo mutante dell'antigene SV40 large T (U19dl89-97tsA58) nelle cellule tumorali originali, facilitandone l'immortalizzazione. Questa modifica consente alle cellule imWilms1 di proliferare indefinitamente mantenendo la stabilità cromosomica, offrendo così un modello affidabile per studi a lungo termine. Le cellule immortalizzate imWilms1 continuano a presentare la stessa mutazione WT1 e a mantenere le caratteristiche mesenchimali della linea Wilms1 madre.

Oltre alle sue caratteristiche genetiche e fenotipiche, la linea cellulare imWilms1 è stata ampiamente analizzata per l'attività delle sue vie di segnalazione. Gli studi di proteomica hanno rivelato la fosforilazione e l'attivazione di diverse tirosin-chinasi recettoriali (RTK), tra cui EGFR, PDGFR β e AXL, con attivazione a valle delle vie di segnalazione MAPK. L'attivazione costante di queste vie nelle cellule imWilms1 sottolinea la loro importanza per l'esplorazione di strategie terapeutiche mirate nel tumore di Wilms. Nel complesso, imWilms1 funge da modello robusto e a lungo termine per studiare i meccanismi molecolari alla base dello sviluppo e della progressione del tumore di Wilms, in particolare quelli guidati da mutazioni WT1 e da vie di segnalazione aberranti.

Organism Umano

Tissue Rene

Disease Tumore di Wilms

Synonyms IM-WT-1

Caratteristiche

Age 10 mesi

Gender Donna

Ethnicity Caucasic

imWilms1 Celle | 300412**Morphology** A forma di fuso**Cell type** Cellule di Wilms**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** imWilms1 (numero di catalogo Cytion 300412)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SN**Depositor** B. Royer-Pokora**GMO Status** GMO-S1: questa linea di tumore di Wilms umano imWilms1 contiene una cassetta di antigene T SV40 triplo mutante che consente l'immortalizzazione condizionale per la ricerca sul nefroblastoma. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.**Dati biomolecolari****Mutational profile** Stato di mutazione WT1: omozigote c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, stato di mutazione CTNNB1: eterozigote TCT>TTT, p.S45F**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.

imWilms1 Celle | 300412

Fluid renewal da 1 a 2 volte alla settimana

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% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attacco e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

imWilms1 Celle | 300412

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.

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: 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 Celle | 300412

Alleli 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