

ImWilms10T Celule | 300419**Informații generale****Description**

Linia celulară imWilms10T este o variantă imortalizată a liniei celulare tumorale primare Wilms10T, care a fost obținută dintr-un eșantion de tumoră Wilms (nefroblastom) la un pacient pediatric. Această linie celulară se distinge printr-o deleție homozigotă a genei WT1, care duce la o pierdere completă a funcției proteinei WT1. WT1 este o genă esențială pentru dezvoltarea rinichilor, iar deleția sa în imWilms10T reflectă o perturbare genetică severă care este asociată cu patogeneza tumorii Wilms. În plus față de deleția WT1, celulele imWilms10T prezintă pierdere de heterozigoție (LOH) în regiunea cromozomială 11p15, care include gene-cheie precum IGF2, contribuind la comportamentul agresiv al tumorii.

Pentru a depăși durata de viață limitată a celulelor Wilms10T, linia celulară imWilms10T a fost stabilită prin introducerea unui antigen SV40 mare T triplu mutant (U19dl89-97tsA58) în celulele tumorale originale. Acest proces de imortalizare permite celulelor imWilms10T să prolifereze pe termen nelimitat, menținând în același timp stabilitatea cromozomială, oferind astfel un model fiabil pentru studii pe termen lung. Celulele imWilms10T păstrează caracteristicile critice ale liniei parentale Wilms10T, inclusiv pierderea completă a WT1 și prezența LOH la 11p15, ceea ce le face o resursă neprețuită pentru studiul consecințelor moleculare ale deleției WT1 și ale proceselor tumorigene asociate.

celulele imWilms10T au fost studiate pe larg pentru implicarea lor în căile de semnalizare cheie care determină progresia tumorală. Analizele proteomice au arătat că aceste celule prezintă fosforilarea și activarea mai multor receptoare tirozin kinaze (RTK), cum ar fi IGF1R, PDGFRβ și AXL. Acești receptori activați semnalizează prin căile din aval, inclusiv căile MAPK și PI3K/AKT, care sunt cruciale pentru menținerea fenotipului malign al celulelor. Linia celulară imWilms10T servește drept instrument important pentru investigarea impactului pierderii complete a WT1 asupra semnalizării celulare, creșterii tumorale și țintelor terapeutice potențiale în tumoarea Wilms, în special pentru subtipurile tumorale mai agresive.

Organism	Om
Tissue	Rinichi
Disease	Tumora Wilms
Synonyms	ImWilms10 T, IM-WT-10

Caracteristici

Age	2 ani
Gender	Femei
Ethnicity	Caucasian
Morphology	În formă de fus

ImWilms10T Celule | 300419**Cell type** Celule Wilms**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** ImWilms10T (număr de catalog Cytion 300419)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DF34**GMO Status** OMG-S1: Acest derivat imWilms10T conține același antigen T SV40 triplu mutant care permite imortalizarea condiționată pentru biologia tumorilor renale pediatrice. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.**Date biomoleculare****Mutational profile** Statutul mutației WT1: homozigot del WT1 în del11p13, LOH: nu în 11p13 dar UPD în 11p15, Statutul mutației CTNNB1: homozigot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Manipulare****Culture Medium** Kit MSCGM (de la Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Fluid renewal** 1 până la 2 ori pe săptămână

ImWilms10T Celule | 300419

Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subkultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Linii celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

ImWilms10T Celule | 300419

Shipping Conditions

Liniiile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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