

imWilms1 Celule | 300412

Informații generale

Description

Linia celulară Wilms1 a fost derivată inițial dintr-o tumoră Wilms primară, obținută de la un pacient diagnosticat cu tumori renale bilaterale mari, o prezentare caracteristică a tumorii Wilms (nefroblastom). Această linie celulară prezintă o mutație homozigotă fără sens în gena WT1 (c.149 C>A, p.S50X), care duce la producerea unei proteine WT1 trunchiate, nefuncționale. WT1 este o genă esențială în dezvoltarea rinichilor, iar mutația sa este strâns asociată cu patogeneza tumorii Wilms, în special în cazul tumorilor care prezintă diferențiere stromală. Celulele Wilms1 prezintă un cariotip stabil, fără anomalii cromozomiale semnificative, și sunt caracterizate de un fenotip mezenchimal, exprimând vimentină, în timp ce le lipsesc markerii epiteliali precum citokeratina. Linia prezintă o capacitate limitată, dar semnificativă de diferențiere mezenchimală, inclusiv potențialul de a se diferenția în celule asemănătoare mușchilor în condiții specifice, ceea ce o transformă într-un model crucial pentru studierea consecințelor moleculare ale mutațiilor WT1.

Pentru a depăși durata de viață limitată a celulelor Wilms1 primare, linia celulară imWilms1 a fost stabilită prin introducerea unui antigen SV40 large T triplu mutant (U19dl89-97tsA58) în celulele tumorale originale, facilitând imortalizarea acestora. Această modificare permite celulelor imWilms1 să prolifereze pe termen nelimitat, menținând în același timp stabilitatea cromozomială, oferind astfel un model fiabil pentru studii pe termen lung. Celulele imWilms1 imortalizate continuă să prezinte aceeași mutație WT1 și păstrează caracteristicile mezenchimale ale liniei parentale Wilms1.

În plus față de caracteristicile sale genetice și fenotipice, linia celulară imWilms1 a fost analizată pe larg pentru activitatea căilor sale de semnalizare. Studiile proteomice au evidențiat fosforilarea și activarea mai multor receptoare tirozin kinaze (RTK), inclusiv EGFR, PDGFR β și AXL, cu activarea în aval a căilor de semnalizare MAPK. Activarea constantă a acestor căi în celulele imWilms1 subliniază relevanța lor pentru explorarea strategiilor terapeutice țintite în tumoarea Wilms. În general, imWilms1 servește drept un model robust și pe termen lung pentru investigarea mecanismelor moleculare care stau la baza dezvoltării și progresiei tumorii Wilms, în special a celor determinate de mutațiile WT1 și de căile de semnalizare aberante.

Organism Om

Tissue Rinichi

Disease Tumora Wilms

Synonyms IM-WT-1

Caracteristici

Age 10 luni

Gender Femei

Ethnicity Caucazian

imWilms1 Celule | 300412

Morphology În formă de fus

Cell type Celule Wilms

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation imWilms1 (număr de catalog Cytion 300412)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SN

GMO Status OMG-S1: Această linie tumorală umană Wilms imWilms1 conține o casetă de antigen T SV40 triplu mutant care permite imortalizarea condiționată pentru cercetarea nefroblastomului. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Mutational profile Statutul mutației WT1: homozigot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, Statutul mutației CTNNB1: heterozigot TCT>TTT, p.S45F

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

imWilms1 Celule | 300412

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.

imWilms1 Celule | 300412

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*: '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