

Cellule Wilms10M | 300418

Informazioni generali

Description

La linea cellulare Wilms10M è stata ottenuta da un nodulo polmonare metastatico di un paziente affetto da tumore di Wilms (nefroblastoma). Come la sua controparte tumorale primaria, Wilms10T, la linea cellulare Wilms10M è caratterizzata da una delezione omozigote del gene WT1, con conseguente assenza completa della proteina WT1. WT1 è essenziale per il normale sviluppo del rene e la sua delezione è associata a un comportamento tumorale più aggressivo, in particolare in caso di metastasi. Inoltre, le cellule Wilms10M presentano una perdita di eterozigosi (LOH) nella regione cromosomica 11p15, che include il gene IGF2, contribuendo ulteriormente alle proprietà maligne di queste cellule.

Le cellule Wilms10M mantengono un cariotipo stabile senza riarrangiamenti cromosomici importanti, a parte la delezione specifica della regione WT1. Questa linea cellulare, derivata da tessuto metastatico, è particolarmente preziosa per studiare i meccanismi molecolari che guidano la metastasi nel tumore di Wilms. Le cellule presentano caratteristiche mesenchimali, esprimendo marcatori come la vimentina, mentre mancano di marcatori epiteliali come la citocheratina, il che indica la loro origine dalla componente stromale del tumore.

La ricerca su Wilms10M si è concentrata sulle vie di segnalazione attive in queste cellule metastatiche. Le analisi proteomiche hanno dimostrato l'attivazione di diverse tirosin-chinasi recettoriali (RTK), tra cui IGF1R, PDGFR β e AXL, coinvolte nella promozione della sopravvivenza, della proliferazione e del potenziale metastatico delle cellule. Vengono attivate anche le vie di segnalazione MAPK e PI3K/AKT, che svolgono un ruolo chiave nel mantenere il fenotipo invasivo e metastatico delle cellule Wilms10M. Data la sua origine metastatica, Wilms10M è un modello essenziale per comprendere gli eventi molecolari alla base della metastasi del tumore di Wilms e per sviluppare strategie terapeutiche mirate contro la malattia metastatica.

Organism

Umano

Tissue

Rene

Disease

Tumore di Wilms

Applications

Modello di coltura cellulare in vitro. Studi biochimici

Synonyms

Wilms10

Caratteristiche

Age

2 anni

Gender

Donna

Ethnicity

Caucasico

Morphology

A forma di fuso

Cellule Wilms10M | 300418**Cell type** Cellule di Wilms**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** Wilms10M (numero di catalogo Cytion 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Depositor** B. Royer-Pokora**Dati biomolecolari****Mutational profile** Stato della mutazione WT1: omozigote del WT1 all'interno di del11p13. LOH: no in 11p13 ma UPD in 11p15. Stato della 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.**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.

Cellule Wilms10M | 300418

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

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.

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.

Cellule Wilms10M | 300418

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 qualità e analisi molecolare

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,y
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