

Cellule Wilms1 | 300411**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare Wilms1 è stata derivata da un campione primario di tumore di Wilms ottenuto da un paziente che presentava grandi tumori renali bilaterali, indicativi del tumore di Wilms, un nefroblastoma pediatrico. Questa linea cellulare è portatrice di una mutazione nonsense omozigote nel gene WT1 (c.149 C>A, p.S50X), che determina una proteina WT1 tronca e non funzionale. Il gene WT1, fondamentale per lo sviluppo e la funzione del rene, è frequentemente mutato nel tumore di Wilms, in particolare in quelli con un sottotipo stromale che presenta una differenziazione mesenchimale ectopica. Le cellule Wilms1 rappresentano quindi un modello unico in vitro per studiare le conseguenze della perdita di funzione di WT1 nella biologia tumorale.

La linea cellulare Wilms1 mantiene un cariotipo stabile senza anomalie cromosomiche significative, consentendo una coltura affidabile a lungo termine. Queste cellule presentano un fenotipo mesenchimale, caratterizzato dall'espressione di vimentina e dall'assenza di marcatori epiteliali come la citocheratina, coerentemente con la loro origine stromale. Inoltre, la linea cellulare dimostra una limitata ma notevole capacità di differenziazione mesenchimale, compresa la capacità di differenziarsi in cellule simili ai muscoli in condizioni appropriate. Ciò rende Wilms1 uno strumento prezioso per studiare i meccanismi molecolari della differenziazione mesenchimale e la sua deregolazione nella patogenesi del tumore di Wilms.

Wilms1 è stato utilizzato anche per studiare lo stato di attivazione di vie di segnalazione chiave coinvolte nella progressione tumorale. Le analisi proteomiche hanno dimostrato che le cellule di Wilms1 presentano la fosforilazione e l'attivazione di diverse tirosin-chinasi recettoriali, tra cui EGFR e PDGFR β , nonché delle vie di segnalazione MAPK a valle. Questi risultati evidenziano l'importanza della linea cellulare Wilms1 per esplorare approcci terapeutici mirati per il tumore di Wilms, analizzando il ruolo di queste vie nella sopravvivenza, nella proliferazione e nella differenziazione delle cellule tumorali.

Organism Umano**Tissue** Rene**Applications** Modello di coltura cellulare in vitro. Studi biochimici**Synonyms** Wilms1-2l**Caratteristiche****Age** 2 anni**Gender** Donna**Ethnicity** Caucasico**Morphology** A forma di fuso**Cell type** Cellule di Wilms

Cellule Wilms1 | 300411

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation Wilms1 (numero di catalogo Cytion 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Depositor B. Royer-Pokora

Dati biomolecolari

Receptors expressed Recettori tirosin-chinasi EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Sì, in topi nudi. Forma un tumore con piccole cellule coerenti con il tumore di Wilms (gli xenotrapianti potrebbero non rappresentare completamente i tumori di Wilm, vedi E. Kuncze Stroup 2017)

Viruses HIV-1: negativo, HBV: negativo, HCV: negativo

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

Karyotype 46, normale

Manipolazione

Culture Medium Kit MSCGM (da Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 ore

Cellule Wilms1 | 300411

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.

Seeding density 1×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 1 a 2 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Veloce

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 Wilms1 | 300411

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.

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 Wilms1 | 300411

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

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