

## Cellule Wilms3 | 300414

## Informazioni generali

## Description

La linea cellulare Wilms3 è stata creata da un tumore di Wilms primario di un paziente pediatrico, caratterizzato da una mutazione somatica WT1. A differenza di molte altre linee cellulari del tumore di Wilms, Wilms3 presenta una mutazione frameshift eterozigote nel gene WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), che porta alla produzione di una proteina WT1 tronca. Questa perdita parziale della funzione di WT1 è associata allo sviluppo di tumori che presentano un fenotipo stromale o mesenchimale. Tuttavia, la mutazione WT1 in Wilms3 non è omozigote, il che aggiunge complessità al suo studio, poiché mantiene una certa funzione WT1 che può influenzare la biologia tumorale in modo diverso rispetto alle linee cellulari con perdita completa di WT1.

Wilms3 porta anche una mutazione nel gene CTNNB1, che interessa specificamente la treonina 41 (p.T41A), che svolge un ruolo critico nella via di segnalazione Wnt. Questa mutazione stabilizza la  $\beta$ -catenina, impedendone la degradazione e portando all'attivazione costitutiva della via Wnt. L'attivazione persistente della segnalazione Wnt guida la proliferazione cellulare e contribuisce alla tumorigenesi in Wilms3, rendendolo un modello chiave per studiare l'impatto delle mutazioni CTNNB1 nel contesto di un background WT1 parzialmente funzionale.

Dal punto di vista fenotipico, le cellule di Wilms3 presentano una morfologia di tipo mesenchimale, esprimono vimentina e mancano di citocheratina, coerentemente con le caratteristiche stromali osservate nel tumore originale. Queste cellule mostrano un potenziale differenziativo limitato, con la capacità di subire una certa differenziazione mesenchimale in condizioni specifiche. Le analisi proteomiche di Wilms3 hanno rivelato l'attivazione di diverse tirosin-chinasi recettoriali (RTK), tra cui PDGFR $\beta$  e AXL, che favoriscono la sopravvivenza e la proliferazione cellulare. Inoltre, vengono attivate le vie di segnalazione a valle, come MAPK e PI3K/AKT, rafforzando le proprietà maligne delle cellule Wilms3.

Un aspetto unico di Wilms3 è la sua funzionalità parziale di WT1, che fornisce una prospettiva distinta su come le mutazioni di WT1 contribuiscono alla biologia del tumore di Wilms quando la mutazione non è completa. L'interazione tra WT1 e la segnalazione Wnt in Wilms3 offre una preziosa opportunità per studiare i ruoli sfumati che queste vie svolgono nello sviluppo del tumore. Nel complesso, Wilms3 rappresenta un modello importante per studiare i meccanismi molecolari alla base del tumore di Wilms in presenza di una perdita parziale di WT1 e dell'attivazione costitutiva della via Wnt.

**Organism** Umano

**Tissue** Rene

**Disease** Tumore di Wilms

**Applications** Modello di coltura cellulare in vitro. Studi biochimici

## Caratteristiche

**Age** 11-12 mesi

**Gender** Uomo

**Cellule Wilms3 | 300414**

<b>Ethnicity</b>	Caucasico
<b>Morphology</b>	A forma di fuso
<b>Cell type</b>	Cellule di Wilms
<b>Growth properties</b>	Aderente

**Dati normativi**

<b>Citation</b>	Wilms3 (numero di catalogo Cytion 300414)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A5SF
<b>Depositor</b>	B. Royer-Pokora

**Dati biomolecolari**

<b>Mutational profile</b>	Stato di mutazione WT1: omozigote c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, stato di mutazione CTNNB1: tipo selvatico
---------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**Manipolazione**

<b>Culture Medium</b>	Kit MSCGM (da Lonza)
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

<b>Subculturing</b>	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.
---------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## Cellule Wilms3 | 300414

### Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, 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%<sub>CO2</sub>, 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.

## Cellule Wilms3 | 300414

### 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,y  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 12,13  
**D16S539:** 9,11  
**D5S818:** 9,9  
**D7S820:** 10,11  
**TH01:** 6,6  
**TPOX:** 8,8  
**vWA:** 16,17  
**D3S1358:** 15,16  
**D21S11:** 29,31  
**D18S51:** 13,17  
**Penta E:** 7,10  
**Penta D:** 9,13  
**D8S1179:** 10,11  
**FGA:** 22,24

### Alleli HLA

**A\*:** '03:01:01  
**B\*:** '35:01:01, '35:03:01  
**C\*:** '04:01:01  
**DRB1\*:** '04:03:01, '11:04:01  
**DQA1\*:** '03:01:01, '05:05:01  
**DQB1\*:** '03:01:01, '03:02:01  
**DPB1\*:** '01:01:01, '04:01:01  
**E:** '01:03:02, '01:06:01