

Cellule Wilms10T | 300417

Informazioni generali

Description

La linea cellulare Wilms10T è stata derivata da un campione primario di tumore di Wilms ottenuto da un paziente con tumore di Wilms, un nefroblastoma pediatrico. Questa linea cellulare è caratterizzata da una delezione omozigote del gene WT1, che porta alla perdita completa della funzione di WT1, un gene critico coinvolto nello sviluppo del rene e nel mantenimento della normale differenziazione renale. A differenza di molte altre linee cellulari del tumore di Wilms, Wilms10T non esprime alcuna proteina WT1, il che riflette le gravi alterazioni genetiche presenti in questo sottotipo di tumore. Inoltre, la linea cellulare Wilms10T presenta una perdita di eterozigosi (LOH) nella regione cromosomica 11p15, che include geni importanti come IGF2, contribuendo ulteriormente alle sue proprietà tumorigeniche.

Le cellule Wilms10T hanno un cariotipo normale e stabile, senza riarrangiamenti cromosomici importanti, a parte la delezione specifica della regione WT1. Questa linea cellulare è stata ampiamente utilizzata per studiare gli effetti della perdita completa di WT1 sulla biologia tumorale, compreso il suo impatto sulla proliferazione cellulare, sulla differenziazione e sulla risposta a varie vie di segnalazione. Le cellule mantengono caratteristiche mesenchimali, esprimendo marcatori come la vimentina, mentre mancano marcatori epiteliali come la citocheratina, indicativi della loro origine stromale.

Un'importante ricerca si è concentrata sulle vie di segnalazione attive nelle cellule Wilms10T. Studi di proteomica hanno dimostrato che queste cellule mostrano l'attivazione di diverse tirosin-chinasi recettoriali (RTK), come IGF1R, PDGFR β e AXL, che sono note per guidare la tumorigenesi. Inoltre, le vie di segnalazione a valle, tra cui le vie MAPK e PI3K/AKT, sono attivate nelle cellule Wilms10T, contribuendo al loro fenotipo tumorale aggressivo. La caratterizzazione completa di Wilms10T ne fa un modello prezioso per studiare le basi molecolari del tumore di Wilms con perdita completa di WT1 e per esplorare potenziali bersagli terapeutici in questo sottotipo di tumore aggressivo.

Organism Umano

Tissue Rene

Disease Tumore di Wilms

Applications Modello di coltura cellulare in vitro e studi biochimici

Synonyms Wilms10

Caratteristiche

Age 2 anni

Gender Donna

Ethnicity Caucasico

Cellule Wilms10T | 300417**Morphology** A forma di fuso**Cell type** Cellule di Wilms**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** Wilms10T (numero di catalogo Cytion 300417)**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**Doubling time** 46 ore**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.

Cellule Wilms10T | 300417

Seeding density 4×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 1 a 2 volte alla settimana

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% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating Nessuno

Cellule Wilms10T | 300417

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.

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: 12,12
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

Cellule Wilms10T | 300417

Alleli 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