

Cellule Wilms6 | 300415

Informazioni generali

Description

La linea cellulare Wilms6 è stata ottenuta da un tumore di Wilms primario di un paziente pediatrico con una mutazione WT1 germinale. Questa linea cellulare è definita da una mutazione nonsense omozigote nel gene WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), che risulta in una proteina WT1 troncata e non funzionale. WT1 è un regolatore critico dello sviluppo del rene e la sua perdita è fortemente associata al tumore di Wilms, in particolare nei casi che mostrano una differenziazione mesenchimale. La linea cellulare Wilms6 è un modello importante per studiare gli effetti tumorali della perdita completa di WT1, in particolare nel contesto di tumori che presentano caratteristiche sia epiteliali che mesenchimali.

Le cellule Wilms6 sono anche portatrici di una mutazione nel gene CTNNB1, che colpisce specificamente la serina 45 (p.S45F), un sito chiave per la fosforilazione che regola la degradazione della β -catenina. Questa mutazione porta alla stabilizzazione e all'accumulo nucleare della β -Catenina, con conseguente attivazione costitutiva della via di segnalazione Wnt. L'attivazione aberrante della segnalazione Wnt è un noto driver della proliferazione cellulare e della tumorigenesi nei tumori di Wilms, rendendo Wilms6 uno strumento prezioso per indagare il ruolo della disregolazione della via Wnt nei tumori con mutazioni WT1.

Fenotipicamente, le cellule di Wilms6 mostrano una morfologia mesenchimale, con una forte espressione di vimentina e l'assenza di marcatori epiteliali come la citocheratina, che riflette la natura stromale del tumore originale. È stato dimostrato che queste cellule possiedono un potenziale differenziativo limitato ma notevole, compresa la capacità di differenziarsi in cellule simili ai muscoli in condizioni specifiche, che rispecchia la differenziazione mesenchimale osservata in alcuni tumori di Wilms. Gli studi di proteomica di Wilms6 hanno identificato l'attivazione di molteplici tirosin-chinasi recettoriali (RTK), tra cui PDGFR β e AXL, coinvolte nella promozione della sopravvivenza, della proliferazione e della migrazione cellulare. L'attivazione a valle di vie di segnalazione come MAPK e PI3K/AKT sottolinea ulteriormente la natura aggressiva di questa linea cellulare.

Nel complesso, la linea cellulare Wilms6 è un modello cruciale per esplorare i meccanismi molecolari alla base dello sviluppo del tumore di Wilms, in particolare nei casi di perdita completa di WT1 combinata con l'attivazione del segnale Wnt. Le sue caratteristiche genetiche e fenotipiche la rendono una piattaforma eccellente per studiare l'interazione tra la carenza di WT1 e le vie di segnalazione aberranti, fornendo indicazioni su potenziali bersagli terapeutici per questo tipo di tumore aggressivo.

Organism Umano

Tissue Rene

Disease Tumore di Wilms

Applications Modello di coltura cellulare in vitro. Studi biochimici

Caratteristiche

Age 15 mesi

Gender Uomo

Cellule Wilms6 | 300415**Ethnicity** Caucasico**Morphology** A forma di fuso**Cell type** Cellule di Wilms**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** Wilms6 (numero di catalogo Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Depositor** B. Royer-Pokora**Dati biomolecolari****Mutational profile** Stato di mutazione WT1: omozigote c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, stato di mutazione CTNNB1: omozigote del TCT, p.DS45**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.

Cellule Wilms6 | 300415

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.

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.

Cellule Wilms6 | 300415

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: 8,11
D16S539: 9,11
D5S818: 8,9
D7S820: 8,11
TH01: 9,9
TPOX: 11,11
vWA: 16,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,30
D18S51: 12,16
Penta E: 8,13
Penta D: 11,11
D8S1179: 11,13
FGA: 22,23

Alleli HLA

A*: '02:05:01, '29:01:01
B*: '07:05:01, '13:02:01
C*: '06:02:01, '15:05:02
DRB1*: '07:01:01, '10:01:01
DQA1*: '01:05:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:01:01
DPB1*: '04:02:01, '17:01:01
E: '01:01:01