

Cellule Wilms2 | 300413

Informazioni generali

Description

La linea cellulare Wilms2 è stata derivata da un tumore di Wilms primario di un paziente pediatrico con una mutazione WT1 germinale. Questa linea cellulare è caratterizzata da una mutazione nonsense omozigote nel gene WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), che determina la produzione di una proteina WT1 tronca e non funzionale. La perdita della funzione di WT1, un gene essenziale per lo sviluppo del rene, è un segno distintivo di alcuni sottotipi di tumore di Wilms, in particolare quelli associati alla differenziazione mesenchimale o stromale. La linea cellulare Wilms2 è un modello significativo per studiare i processi tumorali guidati dalla perdita di WT1, soprattutto nel contesto dei tumori di Wilms che conservano altre caratteristiche genetiche critiche.

Le cellule Wilms2 portano anche mutazioni nel gene CTNNB1, che codifica la β -catenina, un componente chiave della via di segnalazione Wnt. Queste mutazioni, che interessano specificamente la serina 45, portano alla stabilizzazione e all'accumulo di β -Catenina, con conseguente attivazione costitutiva della via Wnt. Questa attivazione è un noto motore della proliferazione cellulare e della tumorigenesi nel tumore di Wilms, rendendo Wilms2 un modello prezioso per comprendere come la segnalazione Wnt aberrante contribuisca allo sviluppo e alla progressione dei tumori con mutazioni WT1.

In termini di fenotipo, le cellule di Wilms2 presentano una morfologia di tipo mesenchimale, esprimendo vimentina e mancando di marcatori epiteliali come la citocheratina. Ciò corrisponde alle caratteristiche stromali del tumore e sottolinea il ruolo di WT1 nella regolazione della transizione mesenchimale-epiteliale durante lo sviluppo del rene. Le analisi proteomiche di Wilms2 hanno identificato l'attivazione di diverse tirosin-chinasi recettoriali (RTK), tra cui PDGFR β e AXL, note per sostenere la sopravvivenza e la proliferazione delle cellule tumorali. Inoltre, vengono attivate anche le vie a valle, come MAPK e PI3K/AKT, che contribuiscono ulteriormente alle proprietà maligne delle cellule Wilms2.

Nel complesso, la linea cellulare Wilms2 serve come strumento essenziale per esplorare i meccanismi molecolari del tumore di Wilms guidato dalla perdita di WT1 e dalla segnalazione Wnt aberrante. Le sue caratteristiche genetiche e fenotipiche forniscono una solida piattaforma per studiare potenziali bersagli terapeutici e per comprendere il ruolo di vie di segnalazione chiave nella patologia dei tumori di Wilms con una componente mesenchimale.

Organism

Umano

Tissue

Rene

Disease

Tumore di Wilms

Applications

Modello di coltura cellulare in vitro. Studi biochimici

Caratteristiche

Age

1 anno

Gender

Uomo

Cellule Wilms2 | 300413

Ethnicity	Caucasico
Morphology	A forma di fuso
Cell type	Cellule di Wilms
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	Wilms2 (numero di catalogo Cytion 300413)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SE
Depositor	B. Royer-Pokora

Dati biomolecolari

Mutational profile	Stato della mutazione WT1: omozigote c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, stato della mutazione CTNNB1: eterozigote del TCT>TAT, p.S45Y
---------------------------	---

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 Wilms2 | 300413**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 Wilms2 | 300413**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 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: 11,11
D13S317: 9,11
D16S539: 9,9
D5S818: 11,11
D7S820: 10,11
TH01: 6,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,19
D3S1358: 15,15
D21S11: 29,32.2
D18S51: 12,17
Penta E: 11,15
Penta D: 10,12
D8S1179: 14,16
FGA: 21,21

Alleli HLA

A*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '15:01:01, '57:01:01
C*: '03:03:01, '07:01:01
DRB1*: '04:01:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '03:03:02
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01, '01:03:02