

Cellule Wilms11 | 300420

Informazioni generali

Description

La linea cellulare Wilms11 è stata derivata da un tumore di Wilms primario (nefroblastoma) di un paziente pediatrico. A differenza di molte altre linee cellulari del tumore di Wilms, Wilms11 è caratterizzata dalla presenza di WT1 wild-type, cioè non ospita mutazioni nel gene WT1, tipicamente associate a tumori di Wilms che presentano fenotipi più aggressivi o stromali. Tuttavia, il tumore Wilms11 presentava una significativa differenziazione stromale, con ampie aree di differenziazione rabdomiomatosa, indicative di elementi mesenchimali all'interno del tumore. La presenza di WT1 wild-type, insieme alla differenziazione stromale del tumore, fornisce un modello unico per comprendere la biologia del tumore di Wilms nei casi in cui le mutazioni di WT1 sono assenti.

Studi genetici su Wilms11 hanno dimostrato che questa linea cellulare porta una mutazione specifica del tumore in CTNNB1, il gene che codifica la β -catenina, che svolge un ruolo cruciale nella via di segnalazione Wnt. In Wilms11, questa mutazione colpisce la serina 45, un sito di fosforilazione chiave coinvolto nella degradazione della β -Catenina. La mutazione CTNNB1 determina la stabilizzazione della β -catenina, con conseguente accumulo e attivazione costitutiva della via di segnalazione Wnt, un motore della proliferazione cellulare e della tumorigenesi. Ciò rende Wilms11 un modello importante per studiare l'interazione tra la segnalazione Wnt e lo sviluppo del tumore di Wilms, in particolare nei casi in cui WT1 rimane intatto.

Le analisi proteomiche di Wilms11 hanno rivelato l'attivazione di diverse tirosin-chinasi recettoriali (RTK), tra cui PDGFR β e AXL, coinvolte nella crescita e nella sopravvivenza delle cellule tumorali. Anche le vie di segnalazione a valle, come le vie MAPK e PI3K/AKT, sono attivate nelle cellule Wilms11, contribuendo al loro comportamento tumorigenico. La capacità delle cellule Wilms11 di subire una differenziazione mesenchimale, in particolare rabdomiomatosa, ne evidenzia il potenziale come modello per lo studio delle componenti mesenchimali del tumore di Wilms. Nel complesso, Wilms11 è uno strumento prezioso per studiare i meccanismi molecolari che guidano la tumorigenesi di Wilms in assenza di mutazioni WT1 ma nel contesto dell'attivazione della via Wnt.

Organism

Umano

Tissue

Rene

Disease

Tumore di Wilms

Applications

Modello di coltura cellulare in vitro. Studi biochimici

Caratteristiche

Age

22 mesi

Gender

Uomo

Ethnicity

Caucasico

Morphology

A forma di fuso

Cellule Wilms11 | 300420**Cell type** Cellule di Wilms**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** Wilms11 (numero di catalogo Cytion 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM**Depositor** B. Royer-Pokora**Dati biomolecolari****Mutational profile** Stato di mutazione WT1: omozigote WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . Stato della mutazione CTNNB1: tipo selvatico**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.**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 Wilms11 | 300420

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% CO_2 , 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 Wilms11 | 300420

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: 10,12
D13S317: 12,12
D16S539: 11,12
D5S818: 12,13
D7S820: 8,9
TH01: 6,6
TPOX: 9,11
vWA: 17,18
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,21
Penta E: 5,7
Penta D: 11,11
D8S1179: 13,13
FGA: 23,26