

Cellule di Wilms8 | 300416

Informazioni generali

Description

La linea cellulare Wilms8 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.1168 C>T, p.R390X), che porta a una perdita completa della funzione di WT1. WT1 è fondamentale per il normale sviluppo del rene e la sua inattivazione è una caratteristica comune in alcuni sottotipi aggressivi di tumore di Wilms, in particolare quelli che presentano una differenziazione mesenchimale. Wilms8, quindi, rappresenta un modello prezioso per studiare gli effetti della perdita di WT1 sulla tumorigenesi, soprattutto nel contesto dei tumori di Wilms che si presentano con una pronunciata componente stromale.

Oltre alla mutazione di WT1, le cellule Wilms8 ospitano una mutazione nel gene CTNNB1 (p.S45A), che codifica la β -catenina, un regolatore chiave della via di segnalazione Wnt. La mutazione alla serina 45 interrompe il normale processo di fosforilazione che porta alla degradazione della β -Catenina, causandone la stabilizzazione e l'accumulo nel nucleo. Ciò comporta l'attivazione costitutiva della segnalazione Wnt, che guida la proliferazione cellulare e contribuisce alle proprietà oncogene della linea cellulare Wilms8. L'interazione tra la perdita di WT1 e la segnalazione Wnt aberrante in Wilms8 ne fa un modello cruciale per la comprensione dei meccanismi molecolari alla base di queste vie nella biologia del tumore di Wilms.

Le cellule Wilms8 mostrano un fenotipo mesenchimale, caratterizzato dall'espressione di vimentina e dall'assenza di marcatori epiteliali come la citocheratina. Ciò corrisponde alla differenziazione stromale osservata nel tumore originale. Le cellule dimostrano una limitata capacità di subire un'ulteriore differenziazione mesenchimale, come la formazione di cellule simili ai muscoli in condizioni specifiche. Le analisi proteomiche di Wilms8 hanno rivelato l'attivazione di più tirosin-chinasi recettoriali (RTK), tra cui PDGFR β e AXL, coinvolte in processi chiave come la sopravvivenza, la migrazione e la proliferazione cellulare. L'attivazione delle vie di segnalazione a valle, in particolare le vie MAPK e PI3K/AKT, contribuisce ulteriormente alle caratteristiche aggressive delle cellule Wilms8.

Nel complesso, la linea cellulare Wilms8 è uno strumento essenziale per studiare le basi molecolari del tumore di Wilms causato dalla perdita di WT1 e dalla segnalazione Wnt aberrante. Le sue caratteristiche genetiche e fenotipiche la rendono una piattaforma robusta per studiare l'interazione tra queste vie critiche e per identificare potenziali bersagli terapeutici nei tumori di Wilms con una componente stromale.

Organism Umano

Tissue Rene

Disease Tumore di Wilms

Applications Modello di coltura cellulare in vitro. Studi biochimici

Caratteristiche

Age 8 mesi

Gender Uomo

Cellule di Wilms8 | 300416**Ethnicity** Caucasico**Morphology** A forma di fuso**Cell type** Cellule di Wilms**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** Wilms8 (numero di catalogo Cytion 300416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SJ**Depositor** B. Royer-Pokora**Dati biomolecolari****Mutational profile** Stato di mutazione WT1: omozigote c.1168C>T, p.390x, LOH: , Stato di mutazione CTNNB1: eterozigote TCT>GCT, p.S45A**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 di Wilms8 | 300416

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% 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.

Cellule di Wilms8 | 300416

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: 8,9
D16S539: 13,13
D5S818: 12,13
D7S820: 8,10
TH01: 8,8
TPOX: 8,9
vWA: 18,18
D3S1358: 16,18
D21S11: 29,33.2
D18S51: 12,12
Penta E: 12,17
Penta D: 10,12
D8S1179: 8,13
FGA: 20,21

Alleli HLA

A*: '02:01:01, '03:01:01
B*: '15:01:01, '37:01:01
C*: '04:01:01, '06:02:01
DRB1*: '08:01:01G, '11:01:01
DQA1*: '04:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '04:02:01
DPB1*: '03:01:01, '06:01:01
E: '01:03:02