

Celule Wilms10M | 300418

Informații generale

Description

Linia celulară Wilms10M a fost stabilită dintr-un nodul pulmonar metastatic al unui pacient cu tumoare Wilms (nefroblastom). Ca și omologul său tumoral primar, Wilms10T, linia celulară Wilms10M se caracterizează printr-o deleție homozigotă a genei WT1, ceea ce duce la absența completă a proteinei WT1. WT1 este esențială pentru dezvoltarea normală a rinichilor, iar deleția sa este asociată cu un comportament tumoral mai agresiv, în special în medii metastatice. În plus, celulele Wilms10M prezintă pierdere de heterozigoție (LOH) în regiunea cromozomială 11p15, care include gena IGF2, contribuind în continuare la proprietățile maligne ale acestor celule.

Celulele Wilms10M mențin un cariotip stabil, fără rearanjamente cromozomiale majore, în afară de deleția specifică a regiunii WT1. Această linie celulară, derivată din țesut metastatic, este deosebit de valoroasă pentru studierea mecanismelor moleculare care determină metastazarea în tumoarea Wilms. Celulele prezintă caracteristici mezenchimale, exprimând markeri precum vimentina, în timp ce le lipsesc markeri epiteliali precum citokeratina, ceea ce indică originea lor din componenta stromală a tumorii.

Cercetările privind Wilms10M s-au axat pe căile de semnalizare care sunt active în aceste celule metastatice. Analizele proteomice au demonstrat activarea mai multor receptoare tirosin kinaze (RTK), inclusiv IGF1R, PDGFR β și AXL, care sunt implicate în promovarea supraviețuirii, proliferării și potențialului metastatic al celulelor. Căile de semnalizare MAPK și PI3K/AKT din aval sunt, de asemenea, activate, jucând un rol-cheie în menținerea fenotipului invaziv și metastatic al celulelor Wilms10M. Având în vedere originea sa metastatică, Wilms10M este un model esențial pentru înțelegerea evenimentelor moleculare care stau la baza metastazei tumorii Wilms și pentru dezvoltarea de strategii terapeutice țintite împotriva bolii metastatice.

Organism

Om

Tissue

Rinichi

Disease

Tumora Wilms

Applications

Model de cultură celulară in vitro. Studii biochimice

Synonyms

Wilms10

Caracteristici

Age

2 ani

Gender

Femei

Ethnicity

Caucasian

Morphology

În formă de fus

Celule Wilms10M | 300418**Cell type** Celule Wilms**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** Wilms10M (număr de catalog Cytion 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Date biomoleculare****Mutational profile** Statutul mutației WT1: homozigot del WT1 în del11p13. LOH: nu în 11p13, dar UPD în 11p15. Statutul mutației CTNNB1: homozigot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Manipulare****Culture Medium** Kit MSCGM (de la Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule Wilms10M | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule Wilms10M | 300418

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.