

Celule Wilms1 | 300411**Informații generale****Description**

Linia celulară Wilms1 a fost derivată dintr-o mostră primară de tumoră Wilms obținută de la un pacient care prezenta tumori renale bilaterale mari, indicând tumoarea Wilms, un nefroblastom pediatric. Această linie celulară prezintă o mutație homozigotă fără sens în gena WT1 (c.149 C>A, p.S50X), care duce la o proteină WT1 trunchiată și nefuncțională. Gena WT1, esențială pentru dezvoltarea și funcționarea rinichilor, este frecvent mutantă în tumorile Wilms, în special în cele cu un subtip stromal care prezintă diferențiere mezenchimală ectopică. Prin urmare, celulele Wilms1 reprezintă un model in vitro unic pentru studierea consecințelor pierderii funcției WT1 în biologia tumorală.

Linia celulară Wilms1 menține un cariotip stabil, fără anomalii cromozomiale semnificative, ceea ce permite o cultură fiabilă pe termen lung. Aceste celule prezintă un fenotip mezenchimal, caracterizat prin expresia vimentinei și absența markerilor epiteliali, cum ar fi citokeratina, în concordanță cu originea lor stromală. În plus, linia celulară demonstrează o capacitate de diferențiere mezenchimală limitată, dar notabilă, inclusiv capacitatea de a se diferenția în celule de tip muscular în condiții adecvate. Aceasta face din Wilms1 un instrument neprețuit pentru investigarea mecanismelor moleculare ale diferențierii mezenchimale și a dereglementării acesteia în patogeneza tumorii Wilms.

Wilms1 a fost, de asemenea, utilizat pentru a studia starea de activare a căilor de semnalizare cheie implicate în progresia tumorală. Analizele proteomice au arătat că celulele Wilms1 prezintă fosforilare și activare a mai multor receptoare tirozin kinaze, inclusiv EGFR și PDGFR β , precum și a căilor de semnalizare MAPK din aval. Aceste constatări evidențiază relevanța liniei celulare Wilms1 în explorarea abordărilor terapeutice țintite pentru tumoarea Wilms prin disecarea rolului acestor căi în supraviețuirea, proliferarea și diferențierea celulelor canceroase.

Organism Om**Tissue** Rinichi**Applications** Model de cultură celulară in vitro. Studii biochimice**Synonyms** Wilms1-2l**Caracteristici****Age** 2 ani**Gender** Femei**Ethnicity** Caucazian**Morphology** În formă de fus**Cell type** Celule Wilms

Celule Wilms1 | 300411

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation Wilms1 (număr de catalog Cytion 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Date biomoleculare

Receptors expressed Receptorul tirozin kinazelor EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Da, în șoareci nude. Formează tumori cu celule mici în concordanță cu tumoarea Wilms (xenogrefele pot să nu reprezinte complet tumorile Wilm, a se vedea E. Kuncze Stroup 2017)

Viruses HIV-1: negativ, VHB: negativ, VHC: negativ

Mutational profile Statutul mutației WT1: homozigot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, Statutul mutației CTNNB1: heterozigot TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normal

Manipulare

Culture Medium Kit MSCGM (de la Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 de ore

Celule Wilms1 | 300411

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.

Seeding density 1×10^4 celule/cm²

Fluid renewal 1 până la 2 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery Rapid

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 Wilms1 | 300411**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 Wilms1 | 300411

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.

Alele HLA

A*: '03:01:01, '24:02:01
B*: '35:03:01, '38:01:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '07:01:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:03:01, '01:03:02