

Celule Wilms3 | 300414

Informații generale

Description

Linia celulară Wilms3 a fost stabilită dintr-o tumoră Wilms primară la un pacient pediatric, caracterizată printr-o mutație somatică WT1. Spre deosebire de multe alte linii celulare de tumori Wilms, Wilms3 prezintă o mutație heterozigotă de tip frameshift în gena WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), care duce la producerea unei proteine WT1 trunchiate. Această pierdere parțială a funcției WT1 este asociată cu dezvoltarea de tumori care prezintă un fenotip stromal sau mezenchimal. Cu toate acestea, mutația WT1 în Wilms3 nu este homozigotă, ceea ce sporește complexitatea studiului său, deoarece păstrează o anumită funcție WT1 care poate influența biologia tumorală în mod diferit în comparație cu liniile celulare cu pierdere completă a WT1.

Wilms3 poartă, de asemenea, o mutație în gena CTNNB1, care afectează în mod specific treonina 41 (p.T41A), care joacă un rol critic în calea de semnalizare Wnt. Această mutație stabilizează β -Catenina, împiedicând degradarea sa și conducând la activarea constitutivă a căii Wnt. Activarea persistentă a semnalizării Wnt determină proliferarea celulară și contribuie la tumorigeneză în Wilms3, făcând din aceasta un model cheie pentru studierea impactului mutațiilor CTNNB1 în contextul unui fundal WT1 parțial funcțional.

Din punct de vedere fenotipic, celulele Wilms3 prezintă o morfologie de tip mezenchimal, exprimând vimentină și lipsindu-le citokeratina, în concordanță cu caracteristicile stromale observate în tumoarea originală. Aceste celule prezintă un potențial de diferențiere limitat, cu capacitatea de a suferi o anumită diferențiere mezenchimală în condiții specifice. Analizele proteomice ale Wilms3 au evidențiat activarea mai multor receptoare tirozin kinaze (RTK), inclusiv PDGFR β și AXL, care susțin supraviețuirea și proliferarea celulară. În plus, căile de semnalizare din aval, cum ar fi MAPK și PI3K/AKT, sunt activate, consolidând proprietățile maligne ale celulelor Wilms3.

Un aspect unic al Wilms3 este funcționalitatea sa parțială WT1, care oferă o perspectivă distinctă asupra modului în care mutațiile WT1 contribuie la biologia tumorii Wilms atunci când mutația nu este completă. Interacțiunea dintre WT1 și semnalizarea Wnt în Wilms3 oferă o oportunitate valoroasă de a studia rolurile nuanțate pe care aceste căi le joacă în dezvoltarea tumorilor. În general, Wilms3 servește ca un model important pentru investigarea mecanismelor moleculare care stau la baza tumorii Wilms în prezența pierderii parțiale a WT1 și a activării constitutive a căii Wnt.

Organism	Om
Tissue	Rinichi
Disease	Tumora Wilms

Applications	Model de cultură celulară in vitro. Studii biochimice
---------------------	-------------------------------------------------------

Caracteristici

Age	11-12 luni
Gender	Masculin

Celule Wilms3 | 300414**Ethnicity** Caucazian**Morphology** În formă de fus**Cell type** Celule Wilms**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** Wilms3 (număr de catalog Cytion 300414)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SF**Date biomoleculare****Mutational profile** Statutul mutației WT1: homozigot c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, Statutul mutației CTNNB1: wild type**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 Wilms3 | 300414

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 Wilms3 | 300414

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
B*: '35:01:01, '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:03:01, '11:04:01
DQA1*: '03:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '03:02:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:03:02, '01:06:01