

Celule Wilms6 | 300415

Informații generale

Description

Linia celulară Wilms6 a fost stabilită dintr-o tumoră Wilms primară la un pacient pediatric cu o mutație WT1 germinală. Această linie celulară este definită de o mutație homozigotă fără sens în gena WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), care duce la o proteină WT1 trunchiată și nefuncțională. WT1 este un regulator critic al dezvoltării rinichilor, iar pierderea sa este puternic asociată cu tumoarea Wilms, în special în cazurile care prezintă diferențiere mezenchimală. Linia celulară Wilms6 este un model important pentru studierea efectelor tumorigene ale pierderii complete a WT1, în special în contextul tumorilor care prezintă atât caracteristici epiteliale, cât și mezenchimale.

Celulele Wilms6 poartă, de asemenea, o mutație în gena CTNNB1, care afectează în mod specific serina 45 (p.S45F), un loc cheie pentru fosforilare care reglează degradarea β -Cateninei. Această mutație duce la stabilizarea și acumularea nucleară a β -Cateninei, ducând la activarea constitutivă a căii de semnalizare Wnt. Activarea aberantă a semnalizării Wnt este un motor cunoscut al proliferării celulare și al tumorigenezei în tumorile Wilms, făcând din Wilms6 un instrument valoros pentru investigarea rolului de dereglare a căii Wnt în tumorile cu mutații WT1.

Din punct de vedere fenotipic, celulele Wilms6 prezintă o morfologie mezenchimală, cu expresie puternică a vimentinei și absența markerilor epiteliali precum citokeratina, reflectând natura stromală a tumorii inițiale. S-a demonstrat că aceste celule posedă un potențial de diferențiere limitat, dar notabil, inclusiv capacitatea de a se diferenția în celule de tip muscular în condiții specifice, ceea ce reflectă diferențierea mezenchimală observată în unele tumori Wilms. Studiile proteomice ale Wilms6 au identificat activarea mai multor receptoare tirozin kinaze (RTK), inclusiv PDGFR β și AXL, care sunt implicate în promovarea supraviețuirii, proliferării și migrației celulare. Activarea în aval a căilor de semnalizare precum MAPK și PI3K/AKT subliniază și mai mult natura agresivă a acestei linii celulare.

În general, linia celulară Wilms6 servește drept model esențial pentru explorarea mecanismelor moleculare care stau la baza dezvoltării tumorii Wilms, în special în cazurile de pierdere completă a WT1 combinată cu activarea semnalizării Wnt. Caracteristicile sale genetice și fenotipice o transformă într-o platformă excelentă pentru studierea interacțiunii dintre deficitul de WT1 și căile de semnalizare aberante, oferind perspective asupra potențialelor ținte terapeutice pentru acest tip de tumoare agresivă.

Organism	Om
Tissue	Rinichi
Disease	Tumora Wilms

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

Caracteristici

Age	15 luni
Gender	Masculin

Celule Wilms6 | 300415**Ethnicity** Caucazian**Morphology** În formă de fus**Cell type** Celule Wilms**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** Wilms6 (număr de catalog Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Date biomoleculare****Mutational profile** Statutul mutației WT1: homozigot c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, Statutul mutației CTNNB1: homozigot del TCT, p.DS45**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 Wilms6 | 300415

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 Wilms6 | 300415

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*: '02:05:01, '29:01:01

B*: '07:05:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '15:05:02

DRB1*: '07:01:01, '10:01:01

DQA1*: '01:05:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:01:01

DPB1*: '04:02:01, '17:01:01

E: '01:01:01