

Celule Wilms8 | 300416

Informații generale

Description

Linia celulară Wilms8 a fost derivată dintr-o tumoră Wilms primară la un pacient pediatric cu o mutație germinală WT1. Această linie celulară este caracterizată de o mutație homozigotă fără sens în gena WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), care duce la o pierdere completă a funcției WT1. WT1 este esențială pentru dezvoltarea normală a rinichilor, iar inactivarea sa este o caracteristică comună în anumite subtipuri agresive de tumori Wilms, în special cele care prezintă diferențiere mezenchimală. Prin urmare, Wilms8 oferă un model valoros pentru studierea efectelor pierderii WT1 asupra tumorigenezei, în special în contextul tumorilor Wilms care apar cu o componentă stromală pronunțată.

În plus față de mutația WT1, celulele Wilms8 conțin o mutație în gena CTNNB1 (p.S45A), care codifică β -Catenina, un regulator cheie al căii de semnalizare Wnt. Mutația la serina 45 perturbă procesul normal de fosforilare care duce la degradarea β -Cateninei, determinând stabilizarea și acumularea acesteia în nucleu. Aceasta duce la activarea constitutivă a semnalizării Wnt, care determină proliferarea celulară și contribuie la proprietățile oncogene ale liniei celulare Wilms8. Interacțiunea dintre pierderea WT1 și semnalizarea Wnt aberantă în Wilms8 face din aceasta un model crucial pentru înțelegerea mecanismelor moleculare care stau la baza acestor căi în biologia tumorii Wilms.

Celulele Wilms8 prezintă un fenotip mezenchimal, caracterizat prin expresia vimentinei și absența markerilor epiteliali, cum ar fi citokeratina. Acest lucru se aliniază cu diferențierea stromală observată în tumoarea inițială. Celulele demonstrează o capacitate limitată de a suferi o diferențiere mezenchimală suplimentară, cum ar fi formarea de celule asemănătoare mușchilor în condiții specifice. Analizele proteomice ale Wilms8 au evidențiat activarea mai multor receptoare tirosin kinaze (RTK), inclusiv PDGFR β și AXL, care sunt implicate în procese-cheie precum supraviețuirea, migrația și proliferarea celulelor. Activarea căilor de semnalizare din aval, în special a căilor MAPK și PI3K/AKT, contribuie în continuare la caracteristicile agresive ale celulelor Wilms8.

În general, linia celulară Wilms8 servește drept instrument esențial pentru investigarea bazei moleculare a tumorii Wilms determinată de pierderea WT1 și de semnalizarea Wnt aberantă. Caracteristicile sale genetice și fenotipice o transformă într-o platformă robustă pentru studierea interacțiunii dintre aceste căi critice și pentru identificarea potențialelor ținte terapeutice în tumorile Wilms cu o componentă stromală.

Organism Om

Tissue Rinichi

Disease Tumora Wilms

Applications Model de cultură celulară in vitro. Studii biochimice

Caracteristici

Age 8 luni

Gender Masculin

Celule Wilms8 | 300416**Ethnicity** Caucazian**Morphology** În formă de fus**Cell type** Celule Wilms**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** Wilms8 (număr de catalog Cytion 300416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SJ**Date biomoleculare****Mutational profile** Statutul mutației WT1: homozigot c.1168C>T, p.390x, LOH: , Statutul mutației CTNNB1: heterozigot TCT>GCT, p.S45A**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 Wilms8 | 300416**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 Wilms8 | 300416

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*: '02:01:01, '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