

Células Wilms3 | 300414

Información general

Description

La línea celular Wilms3 se estableció a partir de un tumor de Wilms primario en un paciente pediátrico, caracterizado por una mutación somática WT1. A diferencia de muchas otras líneas celulares de tumor de Wilms, Wilms3 alberga una mutación heterocigótica de desplazamiento de marco en el gen WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), que conduce a la producción de una proteína WT1 truncada. Esta pérdida parcial de la función de WT1 se asocia con el desarrollo de tumores que muestran un fenotipo estromal o mesenquimal. Sin embargo, la mutación WT1 en Wilms3 no es homocigota, lo que añade complejidad a su estudio, ya que conserva parte de la función WT1 que puede influir en la biología tumoral de forma diferente en comparación con las líneas celulares con pérdida completa de WT1.

Wilms3 también porta una mutación en el gen CTNNB1, que afecta específicamente a la treonina 41 (p.T41A), que desempeña un papel crítico en la vía de señalización Wnt. Esta mutación estabiliza la β -Catenina, impidiendo su degradación y conduciendo a la activación constitutiva de la vía Wnt. La activación persistente de la señalización Wnt impulsa la proliferación celular y contribuye a la tumorigénesis en Wilms3, convirtiéndolo en un modelo clave para estudiar el impacto de las mutaciones CTNNB1 en el contexto de un fondo WT1 parcialmente funcional.

Fenotípicamente, las células Wilms3 presentan una morfología de tipo mesenquimal, expresan vimentina y carecen de citoqueratina, en consonancia con las características estromales observadas en el tumor original. Estas células muestran un potencial de diferenciación limitado, con capacidad para experimentar cierta diferenciación mesenquimal en condiciones específicas. Los análisis proteómicos de Wilms3 han revelado la activación de varios receptores tirosina quinasa (RTK), incluidos PDGFR β y AXL, que favorecen la supervivencia y la proliferación celular. Además, se activan vías de señalización descendentes como MAPK y PI3K/AKT, lo que refuerza las propiedades malignas de las células Wilms3.

Un aspecto único de Wilms3 es su funcionalidad parcial WT1, que proporciona una perspectiva distinta sobre cómo las mutaciones WT1 contribuyen a la biología del tumor de Wilms cuando la mutación no es completa. La interacción entre WT1 y la señalización Wnt en Wilms3 ofrece una valiosa oportunidad para estudiar los matices de estas vías en el desarrollo tumoral. En general, Wilms3 sirve como modelo importante para investigar los mecanismos moleculares que subyacen al tumor de Wilms en presencia de la pérdida parcial de WT1 y la activación constitutiva de la vía Wnt.

Organism Humano

Tissue Riñón

Disease Tumor de Wilms

Applications Modelo de cultivo celular in vitro. Estudios bioquímicos

Características

Age 11-12 meses

Gender Hombre

Células Wilms3 | 300414**Ethnicity** Caucásico**Morphology** En forma de huso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios****Citation** Wilms3 (Cytion número de catálogo 300414)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SF**Depositor** B. Royer-Pokora**Datos biomoleculares****Mutational profile** Estado de la mutación WT1: homocigota c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, Estado de la mutación CTNNB1: tipo salvaje**Manejo de****Culture Medium** Kit MSCGM (de Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Células Wilms3 | 300414**Freeze medium**

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células Wilms3 | 300414

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,13
D16S539: 9,11
D5S818: 9,9
D7S820: 10,11
TH01: 6,6
TPOX: 8,8
vWA: 16,17
D3S1358: 15,16
D21S11: 29,31
D18S51: 13,17
Penta E: 7,10
Penta D: 9,13
D8S1179: 10,11
FGA: 22,24

Alelos 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