

Células Wilms6 | 300415

Información general

Description

La línea celular Wilms6 se estableció a partir de un tumor de Wilms primario en un paciente pediátrico con una mutación germinal WT1. Esta línea celular se define por una mutación homocigota sin sentido en el gen WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), que da lugar a una proteína WT1 truncada y no funcional. WT1 es un regulador crítico del desarrollo renal, y su pérdida está fuertemente asociada al tumor de Wilms, particularmente en los casos que muestran diferenciación mesenquimal. La línea celular Wilms6 es un modelo importante para estudiar los efectos tumorigénicos de la pérdida completa de WT1, sobre todo en el contexto de tumores que presentan características tanto epiteliales como mesenquimales.

Las células Wilms6 también portan una mutación en el gen CTNNB1, que afecta específicamente a la serina 45 (p.S45F), un lugar clave para la fosforilación que regula la degradación de la β -Catenina. Esta mutación conduce a la estabilización y acumulación nuclear de β -Catenina, dando lugar a la activación constitutiva de la vía de señalización Wnt. La activación aberrante de la señalización Wnt es un motor conocido de la proliferación celular y la tumorigénesis en los tumores de Wilms, lo que convierte a Wilms6 en una herramienta valiosa para investigar el papel de la desregulación de la vía Wnt en tumores con mutaciones WT1.

Fenotípicamente, las células Wilms6 muestran una morfología mesenquimal, con una fuerte expresión de vimentina y ausencia de marcadores epiteliales como la citoqueratina, lo que refleja la naturaleza estromal del tumor original. Se ha demostrado que estas células poseen un potencial de diferenciación limitado pero notable, incluida la capacidad de diferenciarse en células de tipo muscular en condiciones específicas, lo que refleja la diferenciación mesenquimal observada en algunos tumores de Wilms. Los estudios proteómicos de Wilms6 han identificado la activación de múltiples receptores tirosina quinasa (RTKs), incluyendo PDGFR β y AXL, que están implicados en la promoción de la supervivencia, proliferación y migración celular. La activación de vías de señalización como MAPK y PI3K/AKT subraya aún más la naturaleza agresiva de esta línea celular.

En general, la línea celular Wilms6 constituye un modelo crucial para explorar los mecanismos moleculares que subyacen al desarrollo de los tumores de Wilms, especialmente en los casos de pérdida completa de WT1 combinada con la activación de la señalización Wnt. Sus características genéticas y fenotípicas la convierten en una excelente plataforma para el estudio de la interacción entre la deficiencia de WT1 y las vías de señalización aberrantes, proporcionando información sobre posibles dianas terapéuticas para este agresivo tipo de tumor.

Organism Humano

Tissue Riñón

Disease Tumor de Wilms

Applications Modelo de cultivo celular in vitro. Estudios bioquímicos

Características

Age 15 meses

Gender Hombre

Células Wilms6 | 300415**Ethnicity** Caucásico**Morphology** En forma de huso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios****Citation** Wilms6 (número de catálogo 300415 de Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Depositor** B. Royer-Pokora**Datos biomoleculares****Mutational profile** Estado de la mutación WT1: homocigoto c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, Estado de la mutación CTNNB1: homocigoto del TCT, p.DS45**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 Wilms6 | 300415

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 x 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%_{CO2}, 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 Wilms6 | 300415

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: 8,11
D16S539: 9,11
D5S818: 8,9
D7S820: 8,11
TH01: 9,9
TPOX: 11,11
vWA: 16,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,30
D18S51: 12,16
Penta E: 8,13
Penta D: 11,11
D8S1179: 11,13
FGA: 22,23

Alelos 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