

Células Wilms8 | 300416

Información general

Description

La línea celular Wilms8 se derivó de un tumor de Wilms primario en un paciente pediátrico con una mutación germinal WT1. Esta línea celular se caracteriza por una mutación homocigota sin sentido en el gen WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), que conduce a una pérdida completa de la función de WT1. WT1 es crucial para el desarrollo normal del riñón, y su inactivación es una característica común en ciertos subtipos agresivos de tumor de Wilms, en particular los que presentan diferenciación mesenquimal. Por tanto, Wilms8 constituye un modelo valioso para estudiar los efectos de la pérdida de WT1 en la tumorigénesis, especialmente en el contexto de los tumores de Wilms que surgen con un componente estromal pronunciado.

Además de la mutación WT1, las células Wilms8 albergan una mutación en el gen CTNNB1 (p.S45A), que codifica la β -Catenina, un regulador clave de la vía de señalización Wnt. La mutación en la serina 45 interrumpe el proceso normal de fosforilación que conduce a la degradación de la β -Catenina, provocando su estabilización y acumulación en el núcleo. Esto da lugar a la activación constitutiva de la señalización Wnt, que impulsa la proliferación celular y contribuye a las propiedades oncogénicas de la línea celular Wilms8. La interacción entre la pérdida de WT1 y la señalización Wnt aberrante en Wilms8 la convierte en un modelo crucial para comprender los mecanismos moleculares subyacentes a estas vías en la biología del tumor de Wilms.

Las células Wilms8 muestran un fenotipo mesenquimal, caracterizado por la expresión de vimentina y la ausencia de marcadores epiteliales como la citoqueratina. Esto coincide con la diferenciación estromal observada en el tumor original. Las células demuestran una capacidad limitada para experimentar una mayor diferenciación mesenquimal, como la formación de células de tipo muscular en condiciones específicas. Los análisis proteómicos de Wilms8 han revelado la activación de múltiples receptores tirosina quinasas (RTK), incluidos PDGFR β y AXL, que intervienen en procesos clave como la supervivencia, la migración y la proliferación celular. La activación de las vías de señalización descendentes, en particular las vías MAPK y PI3K/AKT, contribuye aún más a las características agresivas de las células Wilms8.

En general, la línea celular Wilms8 constituye una herramienta esencial para investigar las bases moleculares del tumor de Wilms provocado por la pérdida de WT1 y la señalización aberrante de Wnt. Sus características genéticas y fenotípicas la convierten en una plataforma sólida para estudiar la interacción entre estas vías críticas y para identificar posibles dianas terapéuticas en tumores de Wilms con un componente estromal.

Organism Humano

Tissue Riñón

Disease Tumor de Wilms

Applications Modelo de cultivo celular in vitro. Estudios bioquímicos

Características

Age 8 meses

Gender Hombre

Células Wilms8 | 300416**Ethnicity** Caucásico**Morphology** En forma de huso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios****Citation** Wilms8 (número de catálogo 300416 de Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SJ**Depositor** B. Royer-Pokora**Datos biomoleculares****Mutational profile** Estado de la mutación WT1: homocigota c.1168C>T, p.390x, LOH: , Estado de la mutación CTNNB1: heterocigota TCT>GCT, p.S45A**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 Wilms8 | 300416**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 Wilms8 | 300416

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: 8,9
D16S539: 13,13
D5S818: 12,13
D7S820: 8,10
TH01: 8,8
TPOX: 8,9
vWA: 18,18
D3S1358: 16,18
D21S11: 29,33.2
D18S51: 12,12
Penta E: 12,17
Penta D: 10,12
D8S1179: 8,13
FGA: 20,21

Alelos 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