

Células Wilms10M | 300418

Informações gerais

Description

A linha celular Wilms10M foi estabelecida a partir de um nódulo pulmonar metastático de um doente com tumor de Wilms (nefroblastoma). Tal como a sua contraparte tumoral primária, Wilms10T, a linha celular Wilms10M é caracterizada por uma deleção homozigótica do gene WT1, resultando na ausência completa da proteína WT1. O WT1 é essencial para o desenvolvimento normal dos rins e a sua deleção está associada a um comportamento tumoral mais agressivo, particularmente em contextos metastáticos. Além disso, as células Wilms10M apresentam perda de heterozigotia (LOH) na região cromossómica 11p15, que inclui o gene IGF2, contribuindo ainda mais para as propriedades malignas destas células.

As células Wilms10M mantêm um cariótipo estável, sem rearranjos cromossómicos importantes para além da deleção específica da região WT1. Esta linha celular, derivada de tecido metastático, é particularmente valiosa para o estudo dos mecanismos moleculares que conduzem à metástase no tumor de Wilms. As células exibem características mesenquimatosas, expressando marcadores como a vimentina, mas não possuem marcadores epiteliais como a citoqueratina, o que indica a sua origem no componente estromal do tumor.

A investigação sobre as Wilms10M tem-se centrado nas vias de sinalização que estão activas nestas células metastáticas. As análises proteómicas demonstraram a ativação de vários receptores tirosina-quinases (RTK), incluindo IGF1R, PDGFR β e AXL, que estão envolvidos na promoção da sobrevivência, proliferação e potencial metastático das células. As vias de sinalização MAPK e PI3K/AKT a jusante são também activadas, desempenhando um papel fundamental na manutenção do fenótipo invasivo e metastático das células Wilms10M. Dada a sua origem metastática, as células Wilms10M são um modelo essencial para a compreensão dos eventos moleculares subjacentes à metástase do tumor de Wilms e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas contra a doença metastática.

Organism Humano

Tissue Rim

Disease Tumor de Wilms

Applications Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

Synonyms Wilms10

Caraterísticas

Age 2 anos

Gender Feminino

Ethnicity Caucasiano

Morphology Em forma de fuso

Células Wilms10M | 300418**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** Wilms10M (número de catálogo Cytion 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Depositor** B. Royer-Pokora**Dados biomoleculares****Mutational profile** Estado da mutação WT1: homocigótico del WT1 em del11p13. LOH: não em 11p13 mas UPD em 11p15. Estado da mutação CTNNB1: homocigótico del TCT, p.DS45, UPD 3p**Manuseamento****Culture Medium** Kit MSCGM (da Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células Wilms10M | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células Wilms10M | 300418

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Perfil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,12
D16S539: 9,1
D5S818: 10,12
D7S820: 11,12
TH01: 8,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,18
D3S1358: 17,17
D21S11: 29,3
D18S51: 14,16
Penta E: 7,1
Penta D: 10,13
D8S1179: 10,15
FGA: 22,24