

Células Wilms1 | 300411

Informações gerais

Description

A linha celular Wilms1 foi derivada de uma amostra primária de tumor de Wilms obtida de um doente que apresentava grandes tumores renais bilaterais, indicativos de tumor de Wilms, um nefroblastoma pediátrico. Esta linha celular tem uma mutação homozigótica sem sentido no gene WT1 (c.149 C>A, p.S50X), que resulta numa proteína WT1 truncada e não funcional. O gene WT1, crítico para o desenvolvimento e função dos rins, é frequentemente mutado no tumor de Wilms, particularmente naqueles com um subtipo estromal que exhibe uma diferenciação mesenquimal ectópica. As células Wilms1, portanto, representam um modelo in vitro único para estudar as consequências da perda de função do WT1 na biologia tumoral.

A linha celular Wilms1 mantém um cariótipo estável, sem anomalias cromossômicas significativas, o que permite uma cultura fiável a longo prazo. Estas células apresentam um fenótipo mesenquimal, caracterizado pela expressão de vimentina e pela ausência de marcadores epiteliais como a citoqueratina, o que é consistente com a sua origem estromal. Além disso, a linha celular demonstra uma capacidade de diferenciação mesenquimal limitada, mas notável, incluindo a capacidade de se diferenciar em células semelhantes a músculos em condições adequadas. Isto faz da Wilms1 uma ferramenta inestimável para investigar os mecanismos moleculares da diferenciação mesenquimal e a sua desregulação na patogénese do tumor de Wilms.

A Wilms1 também tem sido utilizada para estudar o estado de ativação das principais vias de sinalização envolvidas na progressão do tumor. As análises proteômicas mostraram que as células Wilms1 apresentam fosforilação e ativação de vários receptores tirosina-quinases, incluindo o EGFR e o PDGFRβ, bem como das vias de sinalização MAPK a jusante. Estes resultados realçam a relevância da linha celular Wilms1 na exploração de abordagens terapêuticas direcionadas para o tumor de Wilms, dissecando o papel destas vias na sobrevivência, proliferação e diferenciação das células cancerígenas.

Organism Humano

Tissue Rim

Applications Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

Synonyms Wilms1-2l

Caraterísticas

Age 2 anos

Gender Feminino

Ethnicity Caucasiano

Morphology Em forma de fuso

Células Wilms1 | 300411**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** Wilms1 (número de catálogo Cytion 300411)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SC**Dados biomoleculares****Receptors expressed** Receptores tirosina-quinases EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, Axl**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus. Forma um tumor com pequenas células consistente com o tumor de Wilms (os xenoinxertos podem não representar completamente os tumores de Wilm, ver E. Kuncz Stroup 2017)**Viruses** VIH-1: negativo, VHB: negativo, VHC: negativo**Mutational profile** Estado da mutação WT1: homocigótico c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, Estado da mutação CTNNB1: heterocigótico TCT>TTT, p.S45F**Karyotype** 46, normal**Manuseamento****Culture Medium** Kit MSCGM (da Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 horas

Células Wilms1 | 300411

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.

Seeding density 1×10^4 células/cm²

Fluid renewal 1 a 2 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Rápido

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 Wilms1 | 300411

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 Wilms1 | 300411

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.

Alelos HLA

A*: '03:01:01, '24:02:01
B*: '35:03:01, '38:01:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '07:01:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:03:01, '01:03:02