

**Células Wilms3 | 300414****Informações gerais****Description**

A linha celular Wilms3 foi estabelecida a partir de um tumor primário de Wilms num doente pediátrico, caracterizado por uma mutação somática WT1. Ao contrário de muitas outras linhas celulares de tumores de Wilms, a Wilms3 apresenta uma mutação heterozigótica do tipo frameshift no gene WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), levando à produção de uma proteína WT1 truncada. Esta perda parcial da função da WT1 está associada ao desenvolvimento de tumores que apresentam um fenótipo estromal ou mesenquimal. No entanto, a mutação WT1 em Wilms3 não é homozigótica, o que acrescenta complexidade ao seu estudo, uma vez que mantém alguma função WT1 que pode influenciar a biologia tumoral de forma diferente em comparação com as linhas celulares com perda completa de WT1.

A Wilms3 também é portadora de uma mutação no gene CTNNB1, afectando especificamente a treonina 41 (p.T41A), que desempenha um papel crítico na via de sinalização Wnt. Esta mutação estabiliza a  $\beta$ -Catenina, impedindo a sua degradação e conduzindo à ativação constitutiva da via Wnt. A ativação persistente da sinalização Wnt impulsiona a proliferação celular e contribui para a tumorigénese no Wilms3, tornando-o um modelo-chave para o estudo do impacto das mutações CTNNB1 no contexto de um fundo WT1 parcialmente funcional.

Fenotipicamente, as células Wilms3 exibem uma morfologia semelhante à mesenquimal, expressando vimentina e sem citoqueratina, consistente com as características estromais observadas no tumor original. Estas células apresentam um potencial de diferenciação limitado, com a capacidade de sofrer alguma diferenciação mesenquimal em condições específicas. As análises proteómicas das Wilms3 revelaram a ativação de vários receptores tirosina-quinases (RTKs), incluindo o PDGFR $\beta$  e o AXL, que apoiam a sobrevivência e a proliferação celular. Além disso, as vias de sinalização a jusante, como a MAPK e a PI3K/AKT, são activadas, reforçando as propriedades malignas das células Wilms3.

Um aspeto único das Wilms3 é a sua funcionalidade parcial de WT1, o que proporciona uma perspetiva distinta sobre a forma como as mutações de WT1 contribuem para a biologia do tumor de Wilms quando a mutação não é completa. A interação entre o WT1 e a sinalização Wnt no Wilms3 oferece uma oportunidade valiosa para estudar os papéis diferenciados que estas vias desempenham no desenvolvimento do tumor. Em geral, Wilms3 serve como um modelo importante para investigar os mecanismos moleculares subjacentes ao tumor de Wilms na presença de perda parcial de WT1 e ativação constitutiva da via Wnt.

**Organism** Humano**Tissue** Rim**Disease** Tumor de Wilms**Applications** Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos**Caraterísticas****Age** 11-12 meses**Gender** Masculino

**Células Wilms3 | 300414****Ethnicity**      Caucasiano**Morphology**    Em forma de fuso**Cell type**      Células de Wilms**Growth properties**      Aderente**Dados regulamentares****Citation**              Wilms3 (número de catálogo Cytion 300414)**Biosafety level**        1**NCBI\_TaxID**            9606**CellosaurusAccession**    CVCL\_A5SF**Dados biomoleculares****Mutational profile**      Estado da mutação WT1: homozigótico c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, Estado da mutação CTNNB1: tipo selvagem**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.

## Células Wilms3 | 300414

### 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.

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

## Células Wilms3 | 300414

### 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.

### 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 inspeções visuais diárias.

### 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