

Células Wilms10T | 300417**Informações gerais****Description**

A linha celular Wilms10T foi derivada de uma amostra primária de tumor de Wilms obtida de um doente com tumor de Wilms, um nefroblastoma pediátrico. Esta linha celular é caracterizada por uma deleção homozigótica do gene WT1, levando a uma perda completa da função do WT1, um gene crítico envolvido no desenvolvimento dos rins e na manutenção da diferenciação renal normal. Ao contrário de muitas outras linhas celulares de tumor de Wilms, a Wilms10T não tem qualquer expressão da proteína WT1, o que reflecte as graves alterações genéticas presentes neste subtipo de tumor. Além disso, a linha celular Wilms10T apresenta perda de heterozigotia (LOH) na região cromossómica 11p15, que inclui genes importantes como o IGF2, contribuindo ainda mais para as suas propriedades tumorigénicas.

As células Wilms10T têm um cariótipo normal estável, sem rearranjos cromossómicos importantes para além da deleção específica da região WT1. Esta linha celular tem sido utilizada extensivamente para estudar os efeitos da perda completa de WT1 na biologia tumoral, incluindo o seu impacto na proliferação celular, diferenciação e resposta a várias vias de sinalização. As células mantêm características mesenquimatosas, expressando marcadores como a vimentina, mas não possuem marcadores epiteliais como a citoqueratina, o que indica a sua origem estromal.

Uma investigação significativa centrou-se nas vias de sinalização activas nas células Wilms10T. Estudos proteómicos demonstraram que estas células apresentam ativação de vários receptores tirosina-quinases (RTK), como o IGF1R, o PDGFR β e o AXL, que são conhecidos por impulsionar a tumorigénese. Além disso, as vias de sinalização a jusante, incluindo as vias MAPK e PI3K/AKT, são activadas nas células Wilms10T, contribuindo para o seu fenótipo tumoral agressivo. A caracterização abrangente das células Wilms10T torna-as um modelo valioso para a investigação dos fundamentos moleculares do tumor de Wilms com perda completa de WT1, bem como para a exploração de potenciais alvos terapêuticos neste subtipo de tumor agressivo.

Organism Humano**Tissue** Rim**Disease** Tumor de Wilms**Applications** Modelo de cultura celular in vitro e estudos bioquímicos**Synonyms** Wilms10**Caraterísticas****Age** 2 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano

Células Wilms10T | 300417**Morphology** Em forma de fuso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** Wilms10T (número de catálogo Cytion 300417)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**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**Doubling time** 46 horas**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** 4×10^4 células/cm²

Células Wilms10T | 300417

Fluid renewal 1 a 2 vezes por semana

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°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 x 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

Células Wilms10T | 300417

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*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '18:01:01, '27:05:02
C*: '01:02:01, '12:03:01
DRB1*: '01:01:01, '11:04:01
DQA1*: '01:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01