

Células Wilms6 | 300415

Informações gerais

Description

A linha celular Wilms6 foi estabelecida a partir de um tumor primário de Wilms num doente pediátrico com uma mutação WT1 na linha germinal. Esta linha celular é definida por uma mutação homozigótica sem sentido no gene WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), que resulta numa proteína WT1 truncada e não funcional. A WT1 é um regulador crítico do desenvolvimento renal e a sua perda está fortemente associada ao tumor de Wilms, particularmente nos casos que apresentam diferenciação mesenquimal. A linha celular Wilms6 é um modelo importante para estudar os efeitos tumorigénicos da perda completa de WT1, particularmente no contexto de tumores que exibem características epiteliais e mesenquimatosas.

As células Wilms6 também apresentam uma mutação no gene CTNNB1, que afecta especificamente a serina 45 (p.S45F), um local chave para a fosforilação que regula a degradação da β -Catenina. Esta mutação leva à estabilização e acumulação nuclear da β -Catenina, resultando na ativação constitutiva da via de sinalização Wnt. A ativação aberrante da sinalização Wnt é um fator conhecido de proliferação celular e tumorigénese nos tumores de Wilms, o que faz do Wilms6 uma ferramenta valiosa para investigar o papel da desregulação da via Wnt em tumores com mutações WT1.

Fenotipicamente, as células Wilms6 apresentam uma morfologia mesenquimal, com forte expressão de vimentina e ausência de marcadores epiteliais como a citoqueratina, reflectindo a natureza estromal do tumor original. Foi demonstrado que estas células possuem um potencial de diferenciação limitado, mas notável, incluindo a capacidade de se diferenciarem em células do tipo muscular em condições específicas, o que reflecte a diferenciação mesenquimal observada em alguns tumores de Wilms. Os estudos proteómicos do tumor de Wilms6 identificaram a ativação de múltiplos receptores tirosina-quinases (RTKs), incluindo o PDGFR β e o AXL, que estão envolvidos na promoção da sobrevivência, proliferação e migração celulares. A ativação a jusante das vias de sinalização, como a MAPK e a PI3K/AKT, reforça ainda mais a natureza agressiva desta linha celular.

De um modo geral, a linha celular Wilms6 constitui um modelo crucial para explorar os mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento do tumor de Wilms, particularmente nos casos de perda completa de WT1 combinada com a ativação da sinalização Wnt. As suas características genéticas e fenotípicas tornam-na uma excelente plataforma para o estudo da interação entre a deficiência de WT1 e as vias de sinalização aberrantes, fornecendo informações sobre potenciais alvos terapêuticos para este tipo de tumor agressivo.

Organism Humano

Tissue Rim

Disease Tumor de Wilms

Applications Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

Caraterísticas

Age 15 meses

Gender Masculino

Células Wilms6 | 300415**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** Em forma de fuso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** Wilms6 (número de catálogo Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Dados biomoleculares****Mutational profile** Estado da mutação WT1: homozigótico c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, Estado da mutação CTNNB1: homozigótico del TCT, p.DS45**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 Wilms6 | 300415

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, 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°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células Wilms6 | 300415

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*: '02:05:01, '29:01:01

B*: '07:05:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '15:05:02

DRB1*: '07:01:01, '10:01:01

DQA1*: '01:05:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:01:01

DPB1*: '04:02:01, '17:01:01

E: '01:01:01