

Células Wilms2 | 300413

Informações gerais

Description

A linha celular Wilms2 foi derivada de um tumor primário de Wilms de um doente pediátrico com uma mutação WT1 na linha germinal. Esta linha celular é caracterizada por uma mutação homocigótica sem sentido no gene WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), que resulta na produção de uma proteína WT1 truncada e não funcional. A perda de WT1 funcional, um gene essencial para o desenvolvimento dos rins, é uma característica de certos subtipos de tumor de Wilms, particularmente os associados à diferenciação mesenquimal ou estromal. A linha de células Wilms2 é um modelo importante para o estudo dos processos tumorigénicos provocados pela perda do WT1, especialmente no contexto dos tumores de Wilms que mantêm outras características genéticas críticas.

As células Wilms2 também apresentam mutações no gene CTNBN1, que codifica a β -Catenina, um componente-chave da via de sinalização Wnt. Estas mutações, que afectam especificamente a serina 45, levam à estabilização e acumulação da β -Catenina, resultando na ativação constitutiva da via Wnt. Esta ativação é um fator conhecido de proliferação celular e tumorigénese no tumor de Wilms, o que faz do Wilms2 um modelo valioso para compreender como a sinalização Wnt aberrante contribui para o desenvolvimento e progressão de tumores com mutações WT1.

Em termos de fenótipo, as células Wilms2 exibem uma morfologia semelhante à mesenquimal, expressando vimentina e sem marcadores epiteliais como a citoqueratina. Este facto está de acordo com as características estromais do tumor e sublinha o papel do WT1 na regulação das transições mesenquimatosas-epiteliais durante o desenvolvimento do rim. As análises proteómicas do Wilms2 identificaram a ativação de vários receptores tirosina-quinases (RTKs), incluindo o PDGFR β e o AXL, que são conhecidos por apoiar a sobrevivência e a proliferação das células tumorais. Além disso, as vias a jusante, como a MAPK e a PI3K/AKT, também são activadas, contribuindo ainda mais para as propriedades malignas das células Wilms2.

De um modo geral, a linha celular Wilms2 constitui uma ferramenta essencial para explorar os mecanismos moleculares do tumor de Wilms provocado pela perda de WT1 e pela sinalização Wnt aberrante. As suas características genéticas e fenotípicas constituem uma plataforma robusta para a investigação de potenciais alvos terapêuticos e para a compreensão do papel das principais vias de sinalização na patologia dos tumores de Wilms com um componente mesenquimal.

Organism Humano

Tissue Rim

Disease Tumor de Wilms

Applications Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

Caraterísticas

Age 1 ano

Gender Masculino

Células Wilms2 | 300413**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** Em forma de fuso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** Wilms2 (número de catálogo Cytion 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellSaurusAccession** CVCL_A5SE**Dados biomoleculares****Mutational profile** Estado da mutação WT1: homozigótico c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, Estado da mutação CTNNB1: heterozigótico del TCT>TAT, p.S45Y**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 Wilms2 | 300413

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 Wilms2 | 300413

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, '02:01:01
B*: '15:01:01, '57:01:01
C*: '03:03:01, '07:01:01
DRB1*: '04:01:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '03:03:02
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01, '01:03:02