

**Células Wilms11 | 300420****Informações gerais****Description**

A linha celular Wilms11 foi derivada de um tumor primário de Wilms (nefroblastoma) de um doente pediátrico. Ao contrário de muitas outras linhas celulares de tumor de Wilms, a Wilms11 é caracterizada pela presença de WT1 de tipo selvagem, o que significa que não alberga mutações no gene WT1, que está tipicamente associado a tumores de Wilms que exibem fenótipos mais agressivos ou estromais. No entanto, o tumor Wilms11 apresentava uma diferenciação estromal significativa, com grandes áreas de diferenciação rabiomiomatosa, indicativas de elementos mesenquimatosos no tumor. A presença de WT1 de tipo selvagem, juntamente com a diferenciação estromal do tumor, fornece um modelo único para a compreensão da biologia do tumor de Wilms nos casos em que as mutações de WT1 estão ausentes.

Estudos genéticos do Wilms11 demonstraram que esta linha celular é portadora de uma mutação específica do tumor no CTNNB1, o gene que codifica a  $\beta$ -Catenina, que desempenha um papel crucial na via de sinalização Wnt. Em Wilms11, esta mutação afecta a serina 45, um local de fosforilação chave envolvido na degradação da  $\beta$ -Catenina. A mutação CTNNB1 resulta na estabilização da  $\beta$ -Catenina, levando à sua acumulação e à ativação constitutiva da via de sinalização Wnt, um motor da proliferação celular e da tumorigénese. Isto faz do Wilms11 um modelo importante para estudar a interação entre a sinalização Wnt e o desenvolvimento do tumor de Wilms, particularmente nos casos em que o WT1 permanece intacto.

As análises proteómicas do Wilms11 revelaram a ativação de vários receptores tirosina-quinases (RTKs), incluindo o PDGFR $\beta$  e o AXL, que estão envolvidos na condução do crescimento e sobrevivência das células tumorais. As vias de sinalização a jusante, como as vias MAPK e PI3K/AKT, também são activadas nas células Wilms11, contribuindo para o seu comportamento tumorigénico. A capacidade das células Wilms11 de sofrerem diferenciação mesenquimal, particularmente a diferenciação rabiomiomatosa, destaca o seu potencial como modelo para o estudo dos componentes mesenquimais do tumor de Wilms. De um modo geral, as células Wilms11 constituem uma ferramenta valiosa para a investigação dos mecanismos moleculares que conduzem à tumorigénese de Wilms na ausência de mutações WT1, mas no contexto da ativação da via Wnt.

**Organism** Humano**Tissue** Rim**Disease** Tumor de Wilms**Applications** Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos**Caraterísticas****Age** 22 meses**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano

**Células Wilms11 | 300420****Morphology** Em forma de fuso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** Wilms11 (número de catálogo Cytion 300420)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SM**Dados biomoleculares****Mutational profile** Estado da mutação WT1: homozigótico WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . 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.**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 Wilms11 | 300420

### 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, 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células Wilms11 | 300420

### 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.