

Células Wilms10M | 300418

Información general

Description

La línea celular Wilms10M se estableció a partir de un nódulo pulmonar metastásico de un paciente con tumor de Wilms (nefroblastoma). Al igual que su contraparte del tumor primario, Wilms10T, la línea celular Wilms10M se caracteriza por una delección homocigótica del gen WT1, lo que da lugar a la ausencia total de la proteína WT1. El gen WT1 es esencial para el desarrollo normal del riñón, y su delección se asocia con un comportamiento tumoral más agresivo, particularmente en contextos metastásicos. Además, las células Wilms10M presentan pérdida de heterocigosidad (LOH) en la región cromosómica 11p15, que incluye el gen IGF2, lo que contribuye aún más a las propiedades malignas de estas células.

Las células Wilms10M mantienen un cariotipo estable sin reordenamientos cromosómicos importantes, aparte de la delección específica de la región WT1. Esta línea celular, derivada de tejido metastásico, es particularmente valiosa para estudiar los mecanismos moleculares que impulsan la metástasis en el tumor de Wilms. Las células presentan características mesenquimales, expresando marcadores como la vimentina, mientras que carecen de marcadores epiteliales como la citoqueratina, lo cual indica que provienen del componente estromal del tumor.

La investigación sobre Wilms10M se ha centrado en las vías de señalización que están activas en estas células metastásicas. Los análisis proteómicos han demostrado la activación de varias receptoras tirosina quinasa (RTK), entre ellas IGF1R, PDGFR β y AXL, que participan en la promoción de la supervivencia celular, la proliferación y el potencial metastásico. Las vías de señalización posteriores MAPK y PI3K/AKT también se activan, desempeñando un papel clave en el mantenimiento del fenotipo invasivo y metastásico de las células Wilms10M. Dado su origen metastásico, Wilms10M es un modelo esencial para comprender los eventos moleculares que subyacen a la metástasis del tumor de Wilms y para desarrollar estrategias terapéuticas dirigidas contra la enfermedad metastásica.

Organism Humano

Tissue Riñón

Disease Tumor de Wilms

Applications Modelo de cultivo celular in vitro. Estudios bioquímicos

Synonyms Wilms10

Características

Age 2 años

Gender Mujer

Ethnicity caucásico

Morphology En forma de huso

Células Wilms10M | 300418

Cell type Células de Wilms

Growth properties Adherente

Datos normativos

Citation Wilms10M (número de catálogo de Cytion 300418)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SL

Datos biomoleculares

Mutational profile Estado de la mutación en WT1: deleción homocigótica de WT1 dentro de del11p13. LOH: no en 11p13, pero UPD en 11p15. Estado de la mutación en CTNNB1: deleción homocigótica de TCT, p.DS45, UPD en 3p

Manejo

Culture Medium Kit MSCGM (de Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células Wilms10M | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células Wilms10M | 300418

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.