

Células de Wilms2 | 300413

Información general

Description

La línea celular Wilms2 se derivó de un tumor de Wilms primario en un paciente pediátrico con una mutación germinal en el gen WT1. Esta línea celular se caracteriza por una mutación sin sentido homocigótica en el gen WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), lo que da lugar a la producción de una proteína WT1 truncada y no funcional. La pérdida de la proteína WT1 funcional, un gen esencial para el desarrollo renal, es un rasgo característico de ciertos subtipos de tumor de Wilms, particularmente aquellos asociados con la diferenciación mesenquimal o estromal. La línea celular Wilms2 es un modelo importante para estudiar los procesos tumorigénicos impulsados por la pérdida de WT1, especialmente en el contexto de los tumores de Wilms que conservan otras características genéticas críticas.

Las células Wilms2 también presentan mutaciones en el gen CTNNB1, que codifica la β -catenina, un componente clave de la vía de señalización Wnt. Estas mutaciones, que afectan específicamente a la serina 45, conducen a la estabilización y acumulación de la β -catenina, lo que da lugar a la activación constitutiva de la vía Wnt. Se sabe que esta activación impulsa la proliferación celular y la tumorigénesis en el tumor de Wilms, lo que convierte a Wilms2 en un modelo valioso para comprender cómo la señalización anómala de Wnt contribuye al desarrollo y la progresión de tumores con mutaciones en el gen WT1.

En cuanto al fenotipo, las células de Wilms2 presentan una morfología de tipo mesenquimal, expresan vimentina y carecen de marcadores epiteliales como la citoqueratina. Esto concuerda con las características estromales del tumor y subraya el papel de WT1 en la regulación de las transiciones mesenquimales-epiteliales durante el desarrollo renal. Los análisis proteómicos de Wilms2 han identificado la activación de varias tirosina quinasas receptoras (RTK), entre ellas PDGFR β y AXL, de las que se sabe que favorecen la supervivencia y la proliferación de las células tumorales. Además, también se activan vías posteriores como la MAPK y la PI3K/AKT, lo que contribuye aún más a las propiedades malignas de las células de Wilms2.

En general, la línea celular Wilms2 sirve como una herramienta esencial para explorar los mecanismos moleculares del tumor de Wilms impulsados por la pérdida de WT1 y la señalización anómala de Wnt. Sus características genéticas y fenotípicas proporcionan una plataforma sólida para investigar posibles dianas terapéuticas y para comprender el papel de las vías de señalización clave en la patología de los tumores de Wilms con un componente mesenquimal.

Organism

Humano

Tissue

Riñón

Disease

Tumor de Wilms

Applications

Modelo de cultivo celular in vitro. Estudios bioquímicos

Características

Age

1 año

Gender

Hombre

Células de Wilms2 | 300413**Ethnicity** caucásico**Morphology** En forma de huso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Adherente**Datos normativos****Citation** Wilms2 (número de catálogo de Cytion 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SE**Datos biomoleculares****Mutational profile** Estado de la mutación en el gen WT1: homocigoto c.149 C>A, p.R326x; pérdida de heterocigosis (LOH): 11p11-11pter; estado de la mutación en el gen CTNNB1: heterocigoto del TCT>TAT, p.S45Y**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.

Células de Wilms2 | 300413**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.

**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 °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 °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 x 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, transfiere 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 °C, 5 % de CO₂, 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 °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.

Células de Wilms2 | 300413

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 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

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.