

Células de Wilms8 | 300416

Información general

Description

La línea celular Wilms8 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.1168 C>T, p.R390X), lo que provoca una pérdida total de la función de WT1. El gen WT1 es crucial para el desarrollo normal del riñón, y su inactivación es una característica común en ciertos subtipos agresivos del tumor de Wilms, particularmente aquellos que presentan diferenciación mesenquimal. Por lo tanto, Wilms8 ofrece un modelo valioso para estudiar los efectos de la pérdida de WT1 en la tumorigénesis, especialmente en el contexto de los tumores de Wilms que surgen con un componente estromal pronunciado.

Además de la mutación en el gen WT1, las células Wilms8 presentan una mutación en el gen CTNNB1 (p.S45A), que codifica la β -catenina, un regulador clave de la vía de señalización Wnt. La mutación en la serina 45 interrumpe el proceso normal de fosforilación que conduce a la degradación de la β -catenina, lo que provoca su estabilización y acumulación en el núcleo. Esto da lugar a la activación constitutiva de la señalización Wnt, la cual impulsa la proliferación celular y contribuye a las propiedades oncogénicas de la línea celular Wilms8. La interacción entre la pérdida de WT1 y la señalización Wnt anómala en Wilms8 la convierte en un modelo crucial para comprender los mecanismos moleculares subyacentes a estas vías en la biología del tumor de Wilms.

Las células Wilms8 presentan un fenotipo mesenquimal, caracterizado por la expresión de vimentina y la ausencia de marcadores epiteliales como la citoqueratina. Esto concuerda con la diferenciación estromal observada en el tumor original. Las células muestran una capacidad limitada para sufrir una mayor diferenciación mesenquimal, como la formación de células de tipo muscular en condiciones específicas. Los análisis proteómicos de Wilms8 han revelado la activación de múltiples receptores de tirosina quinasa (RTK), incluidos PDGFR β y AXL, que participan en procesos clave como la supervivencia, la migración y la proliferación celular. La activación de las vías de señalización posteriores, en particular las vías MAPK y PI3K/AKT, contribuye aún más a las características agresivas de las células Wilms8.

En general, la línea celular Wilms8 sirve como una herramienta esencial para investigar la base molecular del tumor de Wilms impulsado por la pérdida de WT1 y la señalización anómala de Wnt. Sus características genéticas y fenotípicas la convierten en una plataforma sólida para estudiar la interacción entre estas vías críticas y para identificar posibles dianas terapéuticas en los tumores de Wilms con un componente estromal.

Organism

Humano

Tissue

Riñón

Disease

Tumor de Wilms

Applications

Modelo de cultivo celular in vitro. Estudios bioquímicos

Características

Age

8 meses

Gender

Hombre

Células de Wilms8 | 300416**Ethnicity** caucásico**Morphology** En forma de huso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Adherente**Datos normativos****Citation** Wilms8 (número de catálogo de Cytion 300416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SJ**Datos biomoleculares****Mutational profile** Estado de la mutación en WT1: homocigoto c.1168C>T, p.390x, LOH: , Estado de la mutación en CTNNB1: heterocigoto TCT>GCT, p.S45A**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 Wilms8 | 300416**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 Wilms8 | 300416

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.