

Células Wilms10M | 300418**Informações gerais****Description**

A linhagem celular Wilms10M foi estabelecida a partir de um nódulo pulmonar metastático de um paciente com tumor de Wilms (nefroblastoma). Assim como sua contraparte do tumor primário, a Wilms10T, a linhagem celular Wilms10M é caracterizada por uma deleção homozigótica do gene WT1, resultando na ausência completa da proteína WT1. O WT1 é essencial para o desenvolvimento normal do rim, e sua deleção está associada a um comportamento tumoral mais agressivo, particularmente em casos metastáticos. Além disso, as células Wilms10M apresentam perda de heterozigosidade (LOH) na região cromossômica 11p15, que inclui o gene IGF2, contribuindo ainda mais para as propriedades malignas dessas células.

As células Wilms10M mantêm um cariótipo estável, sem grandes rearranjos cromossômicos, exceto pela deleção específica da região do WT1. Essa linhagem celular, derivada de tecido metastático, é particularmente valiosa para o estudo dos mecanismos moleculares que impulsionam a metástase no tumor de Wilms. As células apresentam características mesenquimais, expressando marcadores como a vimentina, ao mesmo tempo em que não apresentam marcadores epiteliais como a citoqueratina, o que indica sua origem no componente estromal do tumor.

As pesquisas sobre o Wilms10M têm se concentrado nas vias de sinalização ativas nessas células metastáticas. Análises proteômicas demonstraram a ativação de vários receptores de tirosina quinase (RTKs), incluindo IGF1R, PDGFR β e AXL, que estão envolvidos na promoção da sobrevivência celular, proliferação e potencial metastático. As vias de sinalização a jusante MAPK e PI3K/AKT também são ativadas, desempenhando um papel fundamental na manutenção do fenótipo invasivo e metastático das células do Wilms10M. Dada sua origem metastática, o Wilms10M é um modelo essencial para compreender os eventos moleculares subjacentes à metástase do tumor de Wilms e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas contra a doença metastática.

Organism Humano**Tissue** Rim**Disease** Tumor de Wilms**Applications** Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos**Synonyms** Wilms10**Características****Age** 2 anos**Gender** Mulher**Ethnicity** caucasiano

Células Wilms10M | 300418

Morphology Em forma de fuso

Cell type Células de Wilms

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation Wilms10M (número de catálogo da Cytion 300418)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SL

Dados biomoleculares

Mutational profile Status da mutação no WT1: deleção homocigótica do WT1 na região del11p13. LOH: ausente em 11p13, mas com UPD em 11p15. Status da mutação no CTNNB1: deleção homocigótica do TCT, p.DS45, UPD em 3p

Manuseio

Culture Medium Kit MSCGM (da Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células Wilms10M | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células Wilms10M | 300418

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.