

Células de Wilms2 | 300413**Informações gerais****Description**

A linhagem celular Wilms2 foi derivada de um tumor de Wilms primário em um paciente pediátrico com uma mutação germinativa no gene WT1. Essa linha celular é caracterizada por uma mutação nonsense homozigótica no gene WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), que resulta na produção de uma proteína WT1 truncada e não funcional. A perda da função do WT1, um gene essencial para o desenvolvimento renal, é uma característica marcante de certos subtipos de tumor de Wilms, particularmente aqueles associados à diferenciação mesenquimal ou estromal. A linhagem celular Wilms2 é um modelo significativo para o estudo dos processos tumorigênicos impulsionados pela perda de WT1, especialmente no contexto de tumores de Wilms que mantêm outras características genéticas críticas.

As células Wilms2 também apresentam mutações no gene CTNNB1, que codifica a β -catenina, um componente-chave da via de sinalização Wnt. Essas mutações, que afetam especificamente a serina 45, levam à estabilização e ao acúmulo da β -catenina, resultando na ativação constitutiva da via Wnt. Essa ativação é um fator conhecido de proliferação celular e tumorigênese no tumor de Wilms, tornando o Wilms2 um modelo valioso para compreender como a sinalização Wnt aberrante contribui para o desenvolvimento e a progressão de tumores com mutações no WT1.

Em termos de fenótipo, as células do Wilms2 apresentam uma morfologia de tipo mesenquimal, expressando vimentina e sem marcadores epiteliais, como a citoqueratina. Isso está alinhado com as características estromais do tumor e ressalta o papel do WT1 na regulação das transições mesenquimais-epiteliais durante o desenvolvimento renal. Análises proteômicas do Wilms2 identificaram a ativação de vários receptores de tirosina quinase (RTKs), incluindo PDGFR β e AXL, que são conhecidos por promover a sobrevivência e a proliferação das células tumorais. Além disso, vias a jusante, como MAPK e PI3K/AKT, também são ativadas, contribuindo ainda mais para as propriedades malignas das células Wilms2.

De modo geral, a linhagem celular Wilms2 serve como uma ferramenta essencial para explorar os mecanismos moleculares do tumor de Wilms, impulsionados pela perda de WT1 e pela sinalização Wnt aberrante. Suas características genéticas e fenotípicas fornecem uma plataforma robusta para investigar alvos terapêuticos potenciais e para compreender o papel das principais vias de sinalização na patologia dos tumores de Wilms com componente mesenquimal.

Organism

Humano

Tissue

Rim

Disease

Tumor de Wilms

Applications

Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

Características**Age**

1 ano

Gender

Masculino

Células de Wilms2 | 300413**Ethnicity** caucasiano**Morphology** Em forma de fuso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** Wilms2 (número de catálogo da Cytion 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SE**Dados biomoleculares****Mutational profile** Status da mutação no gene WT1: homozigoto para c.149 C>A, p.R326x; LOH: 11p11-11pter; status da mutação no gene CTNNB1: heterozigoto para del TCT>TAT, p.S45Y**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.

Células de Wilms2 | 300413

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.

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.

Células de Wilms2 | 300413

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

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.