Wilms10M

300418

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular Wilms10M foi estabelecida a partir de um nódulo pulmonar metastático de um doente com tumor de Wilms (nefroblastoma). Tal como a sua contraparte tumoral primária, Wilms10T, a linha 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 dos rins e a sua deleção está associada a um comportamento tumoral mais agressivo, particularmente em contextos metastáticos. Além disso, as células Wilms10M apresentam perda de heterozigotia (LOH) na região cromossómica 11p15, que inclui o gene IGF2, contribuindo ainda mais para as propriedades malignas destas células.
As células Wilms10M mantêm um cariótipo estável, sem rearranjos cromossómicos importantes para além da deleção específica da região WT1. Esta linha celular, derivada de tecido metastático, é particularmente valiosa para o estudo dos mecanismos moleculares que conduzem à metástase no tumor de Wilms. As células exibem caraterísticas mesenquimatosas, expressando marcadores como a vimentina, mas não possuem marcadores epiteliais como a citoqueratina, o que indica a sua origem no componente estromal do tumor.
A investigação sobre as Wilms10M tem-se centrado nas vias de sinalização que estão activas nestas células metastáticas. As análises proteómicas demonstraram a ativação de vários receptores tirosina-quinases (RTK), incluindo IGF1R, PDGFRβ e AXL, que estão envolvidos na promoção da sobrevivência, proliferação e potencial metastático das células. As vias de sinalização MAPK e PI3K/AKT a jusante são também activadas, desempenhando um papel fundamental na manutenção do fenótipo invasivo e metastático das células Wilms10M. Dada a sua origem metastática, as células Wilms10M são um modelo essencial para a compreensão dos eventos moleculares subjacentes à metástase do tumor de Wilms e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas contra a doença metastática.

Tecido	Rim
Doença	Tumor de Wilms

Aplicações

Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

Sinónimos

- Wilms10

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Em forma de fuso
Tipo de célula	Células de Wilms

IDENTIFICADORES

Referência

Wilms10M (número de catálogo Cytion 300418)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SL

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Perfil mutacional

Estado da mutação WT1: homozigótico del WT1 em del11p13. LOH: não em 11p13 mas UPD em 11p15. Estado da mutação CTNNB1: homozigótico del TCT, p.DS45, UPD 3p

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

Kit MSCGM (da Lonza)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.
Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Descongelamento e cultura

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	2 anos
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes