Wilms1

300411

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular Wilms1 foi derivada de uma amostra de tumor primário de Wilms obtida de um doente que apresentava grandes tumores renais bilaterais, indicativos de tumor de Wilms, um nefroblastoma pediátrico. Esta linha celular tem uma mutação homozigótica sem sentido no gene WT1 (c.149 C>A, p.S50X), que resulta numa proteína WT1 truncada e não funcional. O gene WT1, crítico para o desenvolvimento e função dos rins, é frequentemente mutado no tumor de Wilms, particularmente naqueles com um subtipo estromal que exibe diferenciação mesenquimal ectópica. As células Wilms1, portanto, representam um modelo in vitro único para estudar as consequências da perda de função do WT1 na biologia tumoral.
A linha celular Wilms1 mantém um cariótipo estável, sem anomalias cromossómicas significativas, o que permite uma cultura fiável a longo prazo. Estas células apresentam um fenótipo mesenquimal, caracterizado pela expressão de vimentina e pela ausência de marcadores epiteliais como a citoqueratina, o que é consistente com a sua origem estromal. Além disso, a linha celular demonstra uma capacidade de diferenciação mesenquimal limitada, mas notável, incluindo a capacidade de se diferenciar em células semelhantes a músculos em condições adequadas. Isto faz da Wilms1 uma ferramenta inestimável para investigar os mecanismos moleculares da diferenciação mesenquimal e a sua desregulação na patogénese do tumor de Wilms.
A Wilms1 também tem sido utilizada para estudar o estado de ativação das principais vias de sinalização envolvidas na progressão do tumor. As análises proteómicas mostraram que as células Wilms1 apresentam fosforilação e ativação de vários receptores tirosina-quinases, incluindo o EGFR e o PDGFRβ, bem como das vias de sinalização MAPK a jusante. Estes resultados realçam a relevância da linha celular Wilms1 na exploração de abordagens terapêuticas direcionadas para o tumor de Wilms, dissecando o papel destas vias na sobrevivência, proliferação e diferenciação das células cancerígenas.

Tecido	Rim

Aplicações

Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

Sinónimos

- Wilms1-2l

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
Tumorigénico	Sim, em ratinhos nus. Forma um tumor com pequenas células consistente com o tumor de Wilms (os xenoenxertos podem não representar completamente os tumores de Wilm, ver E. Kunce Stroup 2017)

Cariótipo

46, normal

Tempo de duplicação	24 horas

IDENTIFICADORES

Referência

Wilms1 (número de catálogo Cytion 300411)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SC

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Receptores expressos

Receptores tirosina-quinases EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Perfil mutacional

Estado da mutação WT1: homozigótico c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, Estado da mutação CTNNB1: heterozigótico TCT>TTT, p.S45F

Vírus

VIH-1: negativo, VHB: negativo, VHC: negativo

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.

Densidade de sementeira	1 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	1 a 2 vezes por semana
Recuperação após o descongelamento	Rápido

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

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB