imWilms1

300412

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular Wilms1 foi originalmente derivada de um tumor primário de Wilms, obtido de um doente a quem foram diagnosticados grandes tumores renais bilaterais, uma apresentação caraterística do tumor de Wilms (nefroblastoma). Esta linha celular tem uma mutação homozigótica sem sentido no gene WT1 (c.149 C>A, p.S50X), que leva à produção de uma proteína WT1 truncada e não funcional. O WT1 é um gene crítico no desenvolvimento dos rins e a sua mutação está intimamente associada à patogénese do tumor de Wilms, particularmente em tumores que exibem diferenciação estromal. As células Wilms1 apresentam um cariótipo estável, sem anomalias cromossómicas significativas, e caracterizam-se por um fenótipo mesenquimal, expressando vimentina, mas sem marcadores epiteliais como a citoqueratina. A linha mostra uma capacidade limitada, mas significativa, de diferenciação mesenquimal, incluindo o potencial para se diferenciar em células do tipo muscular em condições específicas, tornando-a um modelo crucial para o estudo das consequências moleculares das mutações WT1.
Para ultrapassar o tempo de vida limitado das células Wilms1 primárias, foi criada a linha celular imWilms1 através da introdução de um antigénio SV40 large T triplo mutante (U19dl89-97tsA58) nas células tumorais originais, facilitando a sua imortalização. Esta modificação permite que as células imWilms1 proliferem indefinidamente, mantendo a estabilidade cromossómica, oferecendo assim um modelo fiável para estudos a longo prazo. As células imWilms1 imortalizadas continuam a apresentar a mesma mutação WT1 e retêm as caraterísticas mesenquimais da linha Wilms1 parental.
Para além das suas caraterísticas genéticas e fenotípicas, a linha celular imWilms1 foi extensivamente analisada quanto à atividade da sua via de sinalização. Estudos proteómicos revelaram a fosforilação e ativação de várias tirosina-quinases de receptores (RTKs), incluindo EGFR, PDGFRβ e AXL, com ativação a jusante das vias de sinalização MAPK. A ativação consistente dessas vias nas células imWilms1 ressalta sua relevância para a exploração de estratégias terapêuticas direcionadas no tumor de Wilms. De um modo geral, o imWilms1 constitui um modelo robusto e de longa duração para a investigação dos mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento e progressão do tumor de Wilms, em particular os que são provocados por mutações do WT1 e por vias de sinalização aberrantes.

Tecido	Rim
Doença	Tumor de Wilms

Sinónimos

- IM-WT-1

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos OGM

GMO-S1: This imWilms1 human Wilms tumor line contains a triple-mutant SV40 T-antigen cassette enabling conditional immortalization for nephroblastoma research. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Em forma de fuso
Tipo de célula	Células de Wilms

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

IDENTIFICADORES

Referência

imWilms1 (número de catálogo Cytion 300412)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

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

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.

Renovação de fluidos	1 a 2 vezes por semana

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	10 meses
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