Wilms3

300414

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular Wilms3 foi estabelecida a partir de um tumor primário de Wilms num doente pediátrico, caracterizado por uma mutação somática WT1. Ao contrário de muitas outras linhas celulares de tumores de Wilms, a Wilms3 tem uma mutação heterozigótica do tipo frameshift no gene WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), que leva à produção de uma proteína WT1 truncada. Esta perda parcial da função da WT1 está associada ao desenvolvimento de tumores que apresentam um fenótipo estromal ou mesenquimal. No entanto, a mutação WT1 em Wilms3 não é homozigótica, o que acrescenta complexidade ao seu estudo, uma vez que mantém alguma função WT1 que pode influenciar a biologia tumoral de forma diferente em comparação com as linhas celulares com perda completa de WT1.
A Wilms3 também é portadora de uma mutação no gene CTNNB1, afectando especificamente a treonina 41 (p.T41A), que desempenha um papel crítico na via de sinalização Wnt. Esta mutação estabiliza a β-Catenina, impedindo a sua degradação e conduzindo à ativação constitutiva da via Wnt. A ativação persistente da sinalização Wnt impulsiona a proliferação celular e contribui para a tumorigénese no Wilms3, tornando-o um modelo fundamental para o estudo do impacto das mutações CTNNB1 no contexto de um fundo WT1 parcialmente funcional.
Fenotipicamente, as células Wilms3 apresentam uma morfologia do tipo mesenquimal, expressando vimentina e sem citoqueratina, consistente com as caraterísticas estromais observadas no tumor original. Estas células apresentam um potencial de diferenciação limitado, com a capacidade de sofrer alguma diferenciação mesenquimal em condições específicas. As análises proteómicas das Wilms3 revelaram a ativação de vários receptores tirosina-quinases (RTKs), incluindo o PDGFRβ e o AXL, que apoiam a sobrevivência e a proliferação celular. Além disso, as vias de sinalização a jusante, como a MAPK e a PI3K/AKT, são activadas, reforçando as propriedades malignas das células Wilms3.
Um aspeto único das Wilms3 é a sua funcionalidade parcial de WT1, o que proporciona uma perspetiva distinta sobre a forma como as mutações de WT1 contribuem para a biologia do tumor de Wilms quando a mutação não é completa. A interação entre o WT1 e a sinalização Wnt no Wilms3 oferece uma oportunidade valiosa para estudar os papéis diferenciados que estas vias desempenham no desenvolvimento do tumor. Em geral, Wilms3 serve como um modelo importante para investigar os mecanismos moleculares subjacentes ao tumor de Wilms na presença de perda parcial de WT1 e ativação constitutiva da via Wnt.

Tecido	Rim
Doença	Tumor de Wilms

Aplicações

Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Masculino
Propriedades de crescimento	Aderente
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

Wilms3 (número de catálogo Cytion 300414)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SF

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Perfil mutacional

Estado da mutação WT1: homozigótico c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, Estado da mutação CTNNB1: tipo selvagem

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	11-12 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