Wilms3

300414

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular Wilms3 foi estabelecida a partir de um tumor de Wilms primário em um paciente pediátrico, caracterizado por uma mutação somática no gene WT1. Ao contrário de muitas outras linhagens celulares de tumor de Wilms, a Wilms3 apresenta uma mutação heterozigótica de deslocamento de quadro no gene WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), levando à produção de uma proteína WT1 truncada. Essa perda parcial da função do WT1 está associada ao desenvolvimento de tumores que apresentam um fenótipo estromal ou mesenquimal. No entanto, a mutação no WT1 da Wilms3 não é homozigótica, o que aumenta a complexidade de seu estudo, pois ela mantém parte da função do WT1 que pode influenciar a biologia do tumor de maneira diferente em comparação com linhas celulares com perda completa do WT1.
O Wilms3 também apresenta uma mutação no gene CTNNB1, afetando especificamente a treonina 41 (p.T41A), que desempenha um papel crítico na via de sinalização Wnt. Essa mutação estabiliza a β-catenina, impedindo sua degradação e levando à ativação constitutiva da via Wnt. A ativação persistente da sinalização Wnt impulsiona a proliferação celular e contribui para a tumorigênese no Wilms3, tornando-o um modelo-chave para o estudo do impacto das mutações no CTNNB1 no contexto de um contexto de WT1 parcialmente funcional.
Fenotipicamente, as células do Wilms3 apresentam uma morfologia de tipo mesenquimal, expressando vimentina e sem citoqueratina, o que é consistente com as características estromais observadas no tumor original. Essas células apresentam potencial de diferenciação limitado, com a capacidade de sofrer alguma diferenciação mesenquimal sob condições específicas. Análises proteômicas do Wilms3 revelaram a ativação de vários receptores de tirosina quinase (RTKs), incluindo PDGFRβ e AXL, que favorecem a sobrevivência e a proliferação celular. Além disso, vias de sinalização a jusante, como MAPK e PI3K/AKT, são ativadas, reforçando as propriedades malignas das células do Wilms3.
Um aspecto único do Wilms3 é sua funcionalidade parcial do WT1, o que oferece uma perspectiva distinta sobre como as mutações no 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 sutis que essas vias desempenham no desenvolvimento do tumor. De modo geral, o Wilms3 serve como um importante modelo para investigar os mecanismos moleculares subjacentes ao tumor de Wilms na presença de perda parcial do WT1 e ativação constitutiva da via Wnt.

Tissue	Rim
Disease	Tumor de Wilms

Applications

Modelo de cultura celular in vitro. Estudos bioquímicos

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Em forma de fuso
Cell type	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

IDENTIFIERS

Citation

Wilms3 (número de catálogo da Cytion 300414)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SF

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

Status da mutação no gene WT1: homozigoto para c.1293-1294insA, p.V432fsx87; LOH: 11p11-11pter; status da mutação no gene CTNNB1: tipo selvagem

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

Kit MSCGM (da Lonza)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
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.

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Donor age	11 a 12 meses
Ethnicity	caucasiano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes