Wilms6

300415

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular Wilms6 foi estabelecida a partir de um tumor primário de Wilms num doente pediátrico com uma mutação WT1 na linha germinal. Esta linha celular é definida por uma mutação homozigótica sem sentido no gene WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), que resulta numa proteína WT1 truncada e não funcional. A WT1 é um regulador crítico do desenvolvimento renal e a sua perda está fortemente associada ao tumor de Wilms, particularmente nos casos que apresentam diferenciação mesenquimal. A linha celular Wilms6 é um modelo importante para estudar os efeitos tumorigénicos da perda completa de WT1, particularmente no contexto de tumores que exibem caraterísticas epiteliais e mesenquimatosas.
As células Wilms6 também apresentam uma mutação no gene CTNNB1, que afecta especificamente a serina 45 (p.S45F), um local chave para a fosforilação que regula a degradação da β-Catenina. Esta mutação leva à estabilização e acumulação nuclear da β-Catenina, resultando na ativação constitutiva da via de sinalização Wnt. A ativação aberrante da sinalização Wnt é um fator conhecido de proliferação celular e tumorigénese nos tumores de Wilms, o que faz do Wilms6 uma ferramenta valiosa para investigar o papel da desregulação da via Wnt em tumores com mutações WT1.
Fenotipicamente, as células Wilms6 apresentam uma morfologia mesenquimal, com forte expressão de vimentina e ausência de marcadores epiteliais como a citoqueratina, reflectindo a natureza estromal do tumor original. Foi demonstrado que estas células possuem um potencial de diferenciação limitado, mas notável, incluindo a capacidade de se diferenciarem em células do tipo muscular em condições específicas, o que reflecte a diferenciação mesenquimal observada em alguns tumores de Wilms. Os estudos proteómicos do tumor de Wilms6 identificaram a ativação de múltiplos receptores tirosina-quinases (RTKs), incluindo o PDGFRβ e o AXL, que estão envolvidos na promoção da sobrevivência, proliferação e migração celulares. A ativação a jusante das vias de sinalização, como a MAPK e a PI3K/AKT, reforça ainda mais a natureza agressiva desta linha celular.
De um modo geral, a linha celular Wilms6 constitui um modelo crucial para explorar os mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento do tumor de Wilms, particularmente nos casos de perda completa de WT1 combinada com a ativação da sinalização Wnt. As suas caraterísticas genéticas e fenotípicas tornam-na uma excelente plataforma para o estudo da interação entre a deficiência de WT1 e as vias de sinalização aberrantes, fornecendo informações sobre potenciais alvos terapêuticos para este tipo de tumor agressivo.

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

Wilms6 (número de catálogo Cytion 300415)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SI

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Perfil mutacional

Estado da mutação WT1: homozigótico c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, Estado da mutação CTNNB1: homozigótico del TCT, p.DS45

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	15 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