Wilms6

300415

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular Wilms6 foi estabelecida a partir de um tumor de Wilms primário em um paciente pediátrico com uma mutação germinativa no gene WT1. Essa linha celular é caracterizada por uma mutação nonsense homozigótica no gene WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), que resulta em uma proteína WT1 truncada e não funcional. O WT1 é um regulador essencial do desenvolvimento renal, e sua perda está fortemente associada ao tumor de Wilms, particularmente em casos que apresentam diferenciação mesenquimal. A linhagem celular Wilms6 é um importante modelo para o estudo dos efeitos tumorigênicos da perda completa do WT1, especialmente no contexto de tumores que exibem características tanto epiteliais quanto mesenquimais.
As células Wilms6 também apresentam uma mutação no gene CTNNB1, afetando especificamente a serina 45 (p.S45F), um local-chave para a fosforilação que regula a degradação da β-catenina. Essa mutação leva à estabilização e ao acúmulo nuclear da β-catenina, resultando na ativação constitutiva da via de sinalização Wnt. A ativação aberrante da via de sinalização Wnt é um fator conhecido de proliferação celular e tumorigênese nos tumores de Wilms, tornando as células Wilms6 uma ferramenta valiosa para investigar o papel da desregulação da via Wnt em tumores com mutações no WT1.
Fenotipicamente, as células Wilms6 apresentam uma morfologia mesenquimal, com forte expressão de vimentina e ausência de marcadores epiteliais, como a citoqueratina, refletindo a natureza estromal do tumor original. Foi demonstrado que essas células possuem um potencial de diferenciação limitado, mas notável, incluindo a capacidade de se diferenciar em células semelhantes às musculares sob condições específicas, o que reflete a diferenciação mesenquimal observada em alguns tumores de Wilms. Estudos proteômicos da Wilms6 identificaram a ativação de múltiplas quinases de tirosina receptoras (RTKs), incluindo PDGFRβ e AXL, que estão envolvidas na promoção da sobrevivência, proliferação e migração celular. A ativação a jusante de vias de sinalização, como MAPK e PI3K/AKT, ressalta ainda mais a natureza agressiva dessa linhagem celular.
De modo geral, a linhagem celular Wilms6 serve como um modelo crucial para explorar os mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento do tumor de Wilms, particularmente em casos de perda completa de WT1 combinada com a ativação da via de sinalização Wnt. Suas características genéticas e fenotípicas a tornam uma excelente plataforma para o estudo da interação entre a deficiência de WT1 e as vias de sinalização anormais, proporcionando insights sobre possíveis alvos terapêuticos para esse tipo de tumor agressivo.

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

Wilms6 (número de catálogo da Cytion 300415)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SI

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

Status da mutação no gene WT1: homozigoto para c.1168C>T, p.R390x; LOH: 11p11-11pter; status da mutação no gene CTNNB1: homozigoto para del TCT, p.DS45

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	15 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