Wilms8

300416

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular Wilms8 foi derivada de um tumor de Wilms primário em um paciente pediátrico com uma mutação germinativa no gene WT1. Essa linhagem celular é caracterizada por uma mutação nonsense homozigótica no gene WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), levando à perda completa da função do WT1. O WT1 é crucial para o desenvolvimento normal do rim, e sua inativação é uma característica comum em certos subtipos agressivos do tumor de Wilms, particularmente aqueles que apresentam diferenciação mesenquimal. O Wilms8, portanto, fornece um modelo valioso para o estudo dos efeitos da perda do WT1 na tumorigênese, especialmente no contexto de tumores de Wilms que surgem com um componente estromal pronunciado.
Além da mutação no WT1, as células Wilms8 apresentam uma mutação no gene CTNNB1 (p.S45A), que codifica a β-catenina, um regulador-chave da via de sinalização Wnt. A mutação na serina 45 interrompe o processo normal de fosforilação que leva à degradação da β-catenina, causando sua estabilização e acúmulo no núcleo. Isso resulta na ativação constitutiva da via de sinalização Wnt, que impulsiona a proliferação celular e contribui para as propriedades oncogênicas da linhagem celular Wilms8. A interação entre a perda de WT1 e a sinalização Wnt aberrante na Wilms8 torna-a um modelo crucial para a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes a essas vias na biologia do tumor de Wilms.
As células Wilms8 apresentam um fenótipo mesenquimal, caracterizado pela expressão de vimentina e pela ausência de marcadores epiteliais, como a citoqueratina. Isso está em consonância com a diferenciação estromal observada no tumor original. As células demonstram uma capacidade limitada de sofrer diferenciação mesenquimal adicional, como a formação de células semelhantes a células musculares sob condições específicas. Análises proteômicas do Wilms8 revelaram a ativação de múltiplas quinases de tirosina receptoras (RTKs), incluindo PDGFRβ e AXL, que estão envolvidas em processos-chave, como sobrevivência celular, migração e proliferação. A ativação de vias de sinalização a jusante, particularmente as vias MAPK e PI3K/AKT, contribui ainda mais para as características agressivas das células Wilms8.
De modo geral, a linhagem celular Wilms8 serve como uma ferramenta essencial para investigar a base molecular do tumor de Wilms impulsionado pela perda de WT1 e pela sinalização Wnt aberrante. Suas características genéticas e fenotípicas a tornam uma plataforma robusta para estudar a interação entre essas vias críticas e para identificar alvos terapêuticos potenciais em tumores de Wilms com componente estromal.

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

Wilms8 (número de catálogo da Cytion 300416)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

Status da mutação no WT1: homozigoto c.1168C>T, p.390x, LOH: , Status da mutação no CTNNB1: heterozigoto TCT>GCT, p.S45A

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	8 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