Wilms2

300413

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

Wilms2-cellelinjen ble avledet fra en primær Wilms-svulst hos en pediatrisk pasient med en germinal WT1-mutasjon. Denne cellelinjen er karakterisert av en homozygot nonsensmutasjon i WT1-genet (c.1084 C>T, p.R362X), noe som resulterer i produksjon av et avkortet, ikke-funksjonelt WT1-protein. Tap av funksjonelt WT1, et gen som er essensielt for nyreutvikling, er et kjennetegn ved visse undertyper av Wilms-svulster, særlig de som er assosiert med mesenkymal eller stromal differensiering. Wilms2-cellelinjen er en viktig modell for å studere de tumorgenetiske prosessene som drives av WT1-tap, spesielt i sammenheng med Wilms-svulster som beholder andre kritiske genetiske trekk. Wilms2-celler bærer også mutasjoner i CTNNB1-genet, som koder for β-Catenin, en nøkkelkomponent i Wnt-signalveien. Disse mutasjonene, som spesifikt påvirker serin 45, fører til stabilisering og akkumulering av β-Catenin, noe som resulterer i en konstitutiv aktivering av Wnt-signalveien. Denne aktiveringen er en kjent drivkraft for celleproliferasjon og tumorutvikling i Wilms-svulster, noe som gjør Wilms2 til en verdifull modell for å forstå hvordan avvikende Wnt-signalering bidrar til utvikling og progresjon av svulster med WT1-mutasjoner.
Når det gjelder fenotype, har Wilms2-celler en mesenkymlignende morfologi, som uttrykker vimentin og mangler epitelmarkører som cytokeratin. Dette stemmer overens med svulstens stromale egenskaper og understreker WT1s rolle i reguleringen av mesenkym-epitelovergangen under nyreutviklingen. Proteomanalyser av Wilms2 har identifisert aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), inkludert PDGFRβ og AXL, som er kjent for å bidra til overlevelse og spredning av tumorceller. I tillegg aktiveres også nedstrøms signalveier som MAPK og PI3K/AKT, noe som bidrar ytterligere til Wilms2-cellenes ondartede egenskaper.
Wilms2-cellelinjen er et viktig verktøy for å utforske de molekylære mekanismene bak Wilms-svulster som skyldes tap av WT1 og avvikende Wnt-signalering. Cellelinjens genetiske og fenotypiske egenskaper gir en robust plattform for å undersøke potensielle terapeutiske mål og for å forstå hvilken rolle viktige signalveier spiller i patologien til Wilms-svulster med en mesenkymal komponent.

Vev	Nyre
Sykdom	Wilms-svulst

Søknader

In vitro-cellekulturmodell. Biokjemiske studier

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Sex	Mann
Vekstegenskaper	Tilhenger
Biosikkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Spindelformet
Celletype	Wilms-celler

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

Wilms2 (Cytion katalognummer 300413)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SE

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

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Mutasjonsprofil

WT1-mutasjonsstatus: homozygot c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutasjonsstatus: heterozygot del TCT>TAT, p.S45Y

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

MSCGM-sett (fra Lonza)

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.
Dissosiasjonsmiddel	Accutase

Subkultivering

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Donorens alder	1 år

Etnisitet	Kaukasisk

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtale om materialoverføring kreves	Yes