Wilms3

300414

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De Wilms3-cellijn is ontstaan uit een primaire Wilms-tumor van een pediatrische patiënt, gekenmerkt door een somatische WT1-mutatie. In tegenstelling tot veel andere Wilms-tumorcellijnen heeft Wilms3 een heterozygote frameshiftmutatie in het WT1-gen (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), wat leidt tot de productie van een afgekapt WT1-eiwit. Dit gedeeltelijke verlies van de WT1-functie wordt geassocieerd met de ontwikkeling van tumoren met een stromaal of mesenchymaal fenotype. De WT1-mutatie in Wilms3 is echter niet homozygoot, wat het onderzoek complexer maakt, omdat het enige WT1-functie behoudt die de tumorbiologie anders kan beïnvloeden dan cellijnen met volledig WT1-verlies.
Wilms3 draagt ook een mutatie in het CTNNB1-gen, specifiek van invloed op threonine 41 (p.T41A), dat een cruciale rol speelt in de Wnt-signaleringsroute. Deze mutatie stabiliseert β-Catenine, waardoor afbraak wordt voorkomen en de Wnt signaalroute constitutief wordt geactiveerd. De aanhoudende activering van Wnt-signalering stimuleert celproliferatie en draagt bij aan tumorigenese in Wilms3, waardoor het een belangrijk model is voor het bestuderen van de invloed van CTNNB1-mutaties in de context van een gedeeltelijk functionele WT1-achtergrond.
Fenotypisch vertonen Wilms3-cellen een mesenchym-achtige morfologie, waarbij vimentine tot expressie komt en cytokeratine ontbreekt, wat consistent is met de stromale kenmerken die in de oorspronkelijke tumor zijn waargenomen. Deze cellen vertonen een beperkt differentiatiepotentieel, met de mogelijkheid om onder specifieke omstandigheden enige mesenchymale differentiatie te ondergaan.
Proteomische analyses van Wilms3 hebben de activering van verschillende receptor tyrosine kinases (RTK's) aangetoond, waaronder PDGFRβ en AXL, die de overleving en proliferatie van de cellen ondersteunen. Daarnaast worden downstream signaalroutes zoals MAPK en PI3K/AKT geactiveerd, wat de kwaadaardige eigenschappen van Wilms3 cellen versterkt.
Een uniek aspect van Wilms3 is de gedeeltelijke WT1-functionaliteit, wat een ander perspectief biedt op hoe WT1-mutaties bijdragen aan de biologie van Wilms-tumoren wanneer de mutatie niet volledig is. De wisselwerking tussen WT1 en Wnt signalering in Wilms3 biedt een waardevolle mogelijkheid om de genuanceerde rol van deze pathways in de ontwikkeling van tumoren te bestuderen. Over het geheel genomen dient Wilms3 als een belangrijk model voor het onderzoeken van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan Wilms tumor in aanwezigheid van gedeeltelijk WT1 verlies en constitutieve Wnt pathway activatie.

Weefsel	Nieren
Ziekte	Wilms tumor

Toepassingen

In vitro celkweekmodel. Biochemische onderzoeken

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Man
Groei-eigenschappen	Aanhanger
Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Spilvormig
Celtype	Wilms cellen

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

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

Wilms3 (Cytion catalogusnummer 300414)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SF

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Mutatieprofiel

WT1 mutatiestatus: homozygoot c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatiestatus: wild type

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

MSCGM-kit (van Lonza)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.
Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	11-12 maanden
Etnische afkomst	Kaukasisch

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes