Wilms8

300416

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

Wilms8-cellelinjen stammer fra en primær Wilms-tumor hos en pædiatrisk patient med en germline WT1-mutation. Denne cellelinje er karakteriseret ved en homozygot nonsensmutation i WT1-genet (c.1168 C>T, p.R390X), hvilket fører til et fuldstændigt tab af WT1-funktion. WT1 er afgørende for normal nyreudvikling, og dets inaktivering er et almindeligt træk i visse aggressive undertyper af Wilms-tumor, især dem, der udviser mesenkymal differentiering. Wilms8 er derfor en værdifuld model til at studere effekten af WT1-tab på tumorigenese, især i forbindelse med Wilms-tumorer, der opstår med en udpræget stromal komponent.
Ud over WT1-mutationen har Wilms8-celler en mutation i CTNNB1-genet (p.S45A), som koder for β-Catenin, en vigtig regulator af Wnt-signalvejen. Mutationen på serin 45 forstyrrer den normale fosforyleringsproces, der fører til nedbrydning af β-Catenin, hvilket forårsager stabilisering og ophobning i kernen. Dette resulterer i en konstitutiv aktivering af Wnt-signalering, som driver celleproliferation og bidrager til de onkogene egenskaber ved Wilms8-cellelinjen. Samspillet mellem WT1-tab og afvigende Wnt-signalering i Wilms8 gør den til en afgørende model for at forstå de molekylære mekanismer, der ligger til grund for disse veje i Wilms-tumorbiologi.
Wilms8-celler udviser en mesenkymfænotype, der er karakteriseret ved ekspression af vimentin og fravær af epitelmarkører som cytokeratin. Dette stemmer overens med den stromale differentiering, der blev observeret i den oprindelige tumor. Cellerne udviser en begrænset evne til at gennemgå yderligere mesenkymal differentiering, såsom at danne muskellignende celler under specifikke forhold. Proteomiske analyser af Wilms8 har afsløret aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er), herunder PDGFRβ og AXL, som er involveret i nøgleprocesser som celleoverlevelse, migration og spredning. Aktiveringen af downstream-signalveje, især MAPK- og PI3K/AKT-vejene, bidrager yderligere til Wilms8-cellernes aggressive egenskaber.
Samlet set fungerer Wilms8-cellelinjen som et vigtigt værktøj til at undersøge det molekylære grundlag for Wilms-tumor, der er drevet af WT1-tab og afvigende Wnt-signalering. Dens genetiske og fænotypiske egenskaber gør den til en robust platform til at studere samspillet mellem disse kritiske veje og til at identificere potentielle terapeutiske mål i Wilms-tumorer med en stromal komponent.

Væv	Nyre
Sygdom	Wilms-tumor

Anvendelser

In vitro-cellekulturmodel. Biokemiske undersøgelser

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Mand
Vækstegenskaber	Tilhænger
Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Spindelformet
Celletype	Wilms-celler

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

Wilms8 (Cytion katalognummer 300416)

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

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Mutationsprofil

WT1-mutationsstatus: homozygot c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1-mutationsstatus: heterozygot TCT>GCT, p.S45A

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

MSCGM-kit (fra Lonza)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.
Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	8 måneder
Etnisk tilhørsforhold	Kaukasisk

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytіon står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der kræves en aftale om overførsel af materiale	Yes