Wilms8

300416

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

Die Wilms8-Zelllinie wurde aus einem primären Wilms-Tumor eines pädiatrischen Patienten mit einer WT1-Keimbahnmutation gewonnen. Diese Zelllinie ist durch eine homozygote Nonsense-Mutation im WT1-Gen (c.1168 C>T, p.R390X) gekennzeichnet, die zu einem vollständigen Verlust der WT1-Funktion führt. WT1 ist von entscheidender Bedeutung für die normale Nierenentwicklung, und seine Inaktivierung ist ein gemeinsames Merkmal bestimmter aggressiver Subtypen von Wilms-Tumoren, insbesondere solcher, die eine mesenchymale Differenzierung aufweisen. Wilms8 ist daher ein wertvolles Modell für die Untersuchung der Auswirkungen des WT1-Verlusts auf die Tumorgenese, insbesondere im Zusammenhang mit Wilms-Tumoren, die mit einer ausgeprägten stromalen Komponente entstehen. Zusätzlich zur WT1-Mutation weisen Wilms8-Zellen eine Mutation im CTNNB1-Gen (p.S45A) auf, das für β-Catenin kodiert, einen wichtigen Regulator des Wnt-Signalwegs. Die Mutation an Serin 45 unterbricht den normalen Phosphorylierungsprozess, der zum Abbau von β-Catenin führt, und bewirkt dessen Stabilisierung und Anreicherung im Zellkern. Dies führt zu einer konstitutiven Aktivierung der Wnt-Signalübertragung, die die Zellproliferation antreibt und zu den onkogenen Eigenschaften der Wilms8-Zelllinie beiträgt. Das Zusammenspiel von WT1-Verlust und abweichender Wnt-Signalisierung in Wilms8 macht diese Zelllinie zu einem wichtigen Modell für das Verständnis der molekularen Mechanismen, die diesen Signalwegen in der Biologie des Wilms-Tumors zugrunde liegen.
Wilms8-Zellen weisen einen mesenchymalen Phänotyp auf, der durch die Expression von Vimentin und das Fehlen von Epithelmarkern wie Cytokeratin gekennzeichnet ist. Dies stimmt mit der im ursprünglichen Tumor beobachteten stromalen Differenzierung überein. Die Zellen zeigen eine begrenzte Fähigkeit zur weiteren mesenchymalen Differenzierung, z. B. zur Bildung muskelähnlicher Zellen unter bestimmten Bedingungen. Proteomanalysen von Wilms8 haben die Aktivierung mehrerer Rezeptortyrosinkinasen (RTKs), einschließlich PDGFRβ und AXL, gezeigt, die an Schlüsselprozessen wie Zellüberleben, Migration und Proliferation beteiligt sind. Die Aktivierung nachgeschalteter Signalwege, insbesondere der MAPK- und PI3K/AKT-Signalwege, trägt weiter zu den aggressiven Eigenschaften der Wilms8-Zellen bei. Insgesamt dient die Wilms8-Zelllinie als wichtiges Instrument zur Untersuchung der molekularen Grundlagen des Wilms-Tumors, der durch den Verlust von WT1 und eine abweichende Wnt-Signalübertragung ausgelöst wird. Ihre genetischen und phänotypischen Merkmale machen sie zu einer robusten Plattform für die Untersuchung der Interaktion zwischen diesen kritischen Signalwegen und für die Identifizierung potenzieller therapeutischer Ziele bei Wilms-Tumoren mit einer stromalen Komponente.

Gewebe	Niere
Krankheit	Wilms-Tumor

Anwendungen

In-vitro-Zellkulturmodell. Biochemische Studien

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Männlich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
Biologische Sicherheitsstufe	1

MERKMALE

Morphologie	Spindelförmig
Zelltyp	Wilms-Zellen

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

BEZEICHNER

Quellenangabe

Wilms8 (Cytion Katalognummer 300416)

NCBI-Steuer-ID	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Mutationsprofil

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

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

MSCGM-Kit (von Lonza)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.
Dissoziationsreagenz	Accutase

Subkultivierung

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Auftauen und Kultivierung

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.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	8 Monate
Ethnische Zugehörigkeit	Kaukasisch

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Materialübertragungsvereinbarung erforderlich	Yes