Wilms8

300416

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

A Wilms8 sejtvonal egy gyermekbeteg primer Wilms-tumorából származik, amely csíravonalbeli WT1-mutációval rendelkezik. Ezt a sejtvonalat a WT1 gén homozigóta nonszensz mutációja jellemzi (c.1168 C>T, p.R390X), amely a WT1 funkció teljes elvesztéséhez vezet. A WT1 döntő fontosságú a normális vesefejlődéshez, és inaktivációja a Wilms-tumor bizonyos agresszív altípusaiban gyakori, különösen azokban, amelyek mesenchymális differenciálódást mutatnak. A Wilms8 ezért értékes modell a WT1 elvesztésének a tumorigenezisre gyakorolt hatásának tanulmányozására, különösen a kifejezett stromális komponenssel kialakuló Wilms-tumorok összefüggésében.
A WT1 mutáción kívül a Wilms8 sejtek mutációt hordoznak a CTNNB1 génben (p.S45A), amely a β-katenint, a Wnt jelátviteli útvonal kulcsfontosságú szabályozóját kódolja. A 45-ös szerin mutáció megzavarja a β-Catenin degradációjához vezető normál foszforilációs folyamatot, ami stabilizálódását és felhalmozódását okozza a sejtmagban. Ez a Wnt-szignalizáció konstitutív aktiválódását eredményezi, ami a sejtproliferációt hajtja és hozzájárul a Wilms8 sejtvonal onkogén tulajdonságaihoz. A Wilms8-ban a WT1 elvesztése és az aberráns Wnt-szignalizáció közötti kölcsönhatás kulcsfontosságú modellé teszi a Wilms8-at a Wilms-tumor biológiájában ezen útvonalak mögött meghúzódó molekuláris mechanizmusok megértéséhez.
A Wilms8 sejtek mesenchymális fenotípust mutatnak, amelyet a vimentin expressziója és az epithelialis markerek, például a citokeratin hiánya jellemez. Ez megegyezik az eredeti tumorban megfigyelt stromális differenciálódással. A sejtek korlátozottan képesek további mesenchymális differenciálódásra, például izomszerű sejtek kialakítására bizonyos körülmények között. A Wilms8 proteomikai elemzései több receptor-tirozin-kináz (RTK), köztük a PDGFRβ és az AXL aktiválódását mutatták ki, amelyek olyan kulcsfontosságú folyamatokban vesznek részt, mint a sejtek túlélése, migrációja és proliferációja. A downstream jelátviteli útvonalak, különösen a MAPK és a PI3K/AKT útvonalak aktiválása tovább hozzájárul a Wilms8 sejtek agresszív jellemzőihez.
Összességében a Wilms8 sejtvonal alapvető eszközként szolgál a WT1 elvesztése és az aberráns Wnt-szignalizáció által vezérelt Wilms-tumor molekuláris alapjainak vizsgálatához. Genetikai és fenotípusos jellemzői robusztus platformmá teszik e kritikus útvonalak közötti kölcsönhatás tanulmányozására és a stromális komponensű Wilms-tumorok potenciális terápiás célpontjainak azonosítására.

Szövet	Vese
Betegség	Wilms-tumor

Alkalmazások

In vitro sejtkultúra modell. Biokémiai vizsgálatok

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Férfi
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
Biológiai biztonsági szint	1

JELLEMZŐK

Morfológia	Orsó alakú
Sejttípus	Wilms sejtek

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

Wilms8 (Cytion katalógusszám: 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 adóazonosító szám	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Mutációs profil

WT1 mutációs státusz: homozigóta c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1 mutációs státusz: heterozigóta TCT>GCT, p.S45A

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

MSCGM kit (a Lonzától)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.
Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	8 hónap
Etnikai hovatartozás	Kaukázusi

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Anyagátadási megállapodás szükséges	Yes