Wilms8

300416

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

La linea cellulare Wilms8 è stata derivata da un tumore di Wilms primario di un paziente pediatrico con una mutazione WT1 germinale. Questa linea cellulare è caratterizzata da una mutazione nonsense omozigote nel gene WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), che porta a una perdita completa della funzione di WT1. WT1 è fondamentale per il normale sviluppo del rene e la sua inattivazione è una caratteristica comune in alcuni sottotipi aggressivi di tumore di Wilms, in particolare quelli che presentano una differenziazione mesenchimale. Wilms8, quindi, rappresenta un modello prezioso per studiare gli effetti della perdita di WT1 sulla tumorigenesi, soprattutto nel contesto dei tumori di Wilms che si presentano con una pronunciata componente stromale.
Oltre alla mutazione di WT1, le cellule Wilms8 ospitano una mutazione nel gene CTNNB1 (p.S45A), che codifica la β-catenina, un regolatore chiave della via di segnalazione Wnt. La mutazione alla serina 45 interrompe il normale processo di fosforilazione che porta alla degradazione della β-Catenina, causandone la stabilizzazione e l'accumulo nel nucleo. Ciò comporta l'attivazione costitutiva della segnalazione Wnt, che guida la proliferazione cellulare e contribuisce alle proprietà oncogene della linea cellulare Wilms8. L'interazione tra la perdita di WT1 e la segnalazione Wnt aberrante in Wilms8 ne fa un modello cruciale per la comprensione dei meccanismi molecolari alla base di queste vie nella biologia del tumore di Wilms.
Le cellule Wilms8 mostrano un fenotipo mesenchimale, caratterizzato dall'espressione di vimentina e dall'assenza di marcatori epiteliali come la citocheratina. Ciò corrisponde alla differenziazione stromale osservata nel tumore originale. Le cellule dimostrano una limitata capacità di subire un'ulteriore differenziazione mesenchimale, come la formazione di cellule simili ai muscoli in condizioni specifiche. Le analisi proteomiche di Wilms8 hanno rivelato l'attivazione di più tirosin-chinasi recettoriali (RTK), tra cui PDGFRβ e AXL, coinvolte in processi chiave come la sopravvivenza, la migrazione e la proliferazione cellulare. L'attivazione delle vie di segnalazione a valle, in particolare le vie MAPK e PI3K/AKT, contribuisce ulteriormente alle caratteristiche aggressive delle cellule Wilms8.
Nel complesso, la linea cellulare Wilms8 è uno strumento essenziale per studiare le basi molecolari del tumore di Wilms causato dalla perdita di WT1 e dalla segnalazione Wnt aberrante. Le sue caratteristiche genetiche e fenotipiche la rendono una piattaforma robusta per studiare l'interazione tra queste vie critiche e per identificare potenziali bersagli terapeutici nei tumori di Wilms con una componente stromale.

Tessuto	Rene
Malattia	Tumore di Wilms

Applicazioni

Modello di coltura cellulare in vitro. Studi biochimici

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Maschio
Proprietà di crescita	Aderente
Livello di biosicurezza	1

CARATTERISTICHE

Morfologia	A forma di fuso
Tipo di cellula	Cellule di Wilms

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

Wilms8 (numero di catalogo Cytion 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

Codice fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Profilo mutazionale

Stato di mutazione WT1: omozigote c.1168C>T, p.390x, LOH: , Stato di mutazione CTNNB1: eterozigote TCT>GCT, p.S45A

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

Kit MSCGM (da Lonza)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.
Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Età dei donatori	8 mesi
Etnia	Caucasico

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

È richiesto un accordo di trasferimento di materiale	Yes