Wilms8

300416

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

Wilms8-cellelinjen ble avledet fra en primær Wilms-svulst hos en pediatrisk pasient med en WT1-mutasjon i kimbanen. Denne cellelinjen er karakterisert av en homozygot nonsensmutasjon i WT1-genet (c.1168 C>T, p.R390X), noe som fører til et fullstendig tap av WT1-funksjon. WT1 er avgjørende for normal nyreutvikling, og inaktivering av WT1 er et vanlig trekk ved visse aggressive undertyper av Wilms-svulster, særlig de som viser mesenkymal differensiering. Wilms8 er derfor en verdifull modell for å studere effekten av WT1-tap på tumorigenese, spesielt i forbindelse med Wilms-svulster som oppstår med en utpreget stromal komponent.
I tillegg til WT1-mutasjonen har Wilms8-celler en mutasjon i CTNNB1-genet (p.S45A), som koder for β-katenin, en viktig regulator av Wnt-signalveien. Mutasjonen på serin 45 forstyrrer den normale fosforyleringsprosessen som fører til nedbrytning av β-Catenin, noe som fører til at β-Catenin stabiliseres og akkumuleres i kjernen. Dette resulterer i en konstitutiv aktivering av Wnt-signalering, noe som driver celleproliferasjon og bidrar til de onkogene egenskapene til Wilms8-cellelinjen. Samspillet mellom tap av WT1 og avvikende Wnt-signalering i Wilms8 gjør denne cellelinjen til en viktig modell for å forstå de molekylære mekanismene som ligger til grunn for disse signalveiene i Wilms' tumorbiologi.
Wilms8-celler viser en mesenkymal fenotype, karakterisert ved uttrykk av vimentin og fravær av epitelmarkører som cytokeratin. Dette samsvarer med den stromale differensieringen som ble observert i den opprinnelige svulsten. Cellene viser en begrenset evne til å gjennomgå ytterligere mesenkymal differensiering, for eksempel til å danne muskellignende celler under spesifikke betingelser.
Proteomanalyser av Wilms8 har avdekket aktivering av flere reseptortyrosinkinaser (RTK-er), blant annet PDGFRβ og AXL, som er involvert i viktige prosesser som celleoverlevelse, migrasjon og proliferasjon. Aktiveringen av nedstrøms signalveier, særlig MAPK- og PI3K/AKT-veiene, bidrar ytterligere til Wilms8-cellenes aggressive egenskaper.
Wilms8-cellelinjen er et viktig verktøy for å undersøke det molekylære grunnlaget for Wilms-svulster som skyldes tap av WT1 og avvikende Wnt-signalering. Cellelinjens genetiske og fenotypiske egenskaper gjør den til en robust plattform for å studere samspillet mellom disse kritiske signalveiene og for å identifisere potensielle terapeutiske mål i Wilms-svulster med en stromal komponent.

Vev	Nyre
Sykdom	Wilms-svulst

Søknader

In vitro-cellekulturmodell. Biokjemiske studier

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Sex	Mann
Vekstegenskaper	Tilhenger
Biosikkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

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

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Mutasjonsprofil

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

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

MSCGM-sett (fra Lonza)

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.
Dissosiasjonsmiddel	Accutase

Subkultivering

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Donorens alder	8 måneder
Etnisitet	Kaukasisk

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtale om materialoverføring kreves	Yes