Wilms8

300416

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De Wilms8-cellijn is afgeleid van een primaire Wilms-tumor van een pediatrische patiënt met een kiembaan-WT1-mutatie. Deze cellijn wordt gekenmerkt door een homozygote nonsensmutatie in het WT1-gen (c.1168 C>T, p.R390X), die leidt tot een volledig verlies van de WT1-functie. WT1 is cruciaal voor de normale ontwikkeling van de nieren en de inactivatie ervan komt vaak voor bij bepaalde agressieve subtypes van Wilms tumoren, met name die met mesenchymale differentiatie. Wilms8 biedt daarom een waardevol model voor het bestuderen van de effecten van WT1-verlies op tumorigenese, vooral in de context van Wilms-tumoren die ontstaan met een uitgesproken stromale component. Naast de WT1-mutatie hebben Wilms8-cellen een mutatie in het CTNNB1-gen (p.S45A), dat codeert voor β-Catenine, een belangrijke regulator van de Wnt-signaleringsroute. De mutatie op serine 45 verstoort het normale fosforyleringsproces dat leidt tot degradatie van β-Catenine, waardoor het stabiliseert en zich ophoopt in de celkern. Dit resulteert in de constitutieve activering van Wnt signalering, die de celproliferatie aanstuurt en bijdraagt aan de oncogene eigenschappen van de Wilms8 cellijn. De wisselwerking tussen het verlies van WT1 en afwijkende Wnt signalering in Wilms8 maakt het een cruciaal model voor het begrijpen van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan deze pathways in de biologie van Wilms tumoren.
Wilms8-cellen vertonen een mesenchymaal fenotype, gekenmerkt door de expressie van vimentine en de afwezigheid van epitheliale markers zoals cytokeratine. Dit komt overeen met de stromale differentiatie die werd waargenomen in de oorspronkelijke tumor. De cellen laten een beperkt vermogen zien om verdere mesenchymale differentiatie te ondergaan, zoals het vormen van spierachtige cellen onder specifieke omstandigheden. Proteomische analyses van Wilms8 hebben de activering van meerdere receptor tyrosine kinases (RTK's) aangetoond, waaronder PDGFRβ en AXL, die betrokken zijn bij belangrijke processen zoals celoverleving, migratie en proliferatie. De activering van downstream signaalroutes, met name de MAPK en PI3K/AKT routes, draagt verder bij aan de agressieve eigenschappen van Wilms8 cellen.
Over het geheel genomen dient de Wilms8 cellijn als een essentieel hulpmiddel voor het onderzoeken van de moleculaire basis van Wilms tumor, gedreven door WT1 verlies en afwijkende Wnt signalering. De genetische en fenotypische eigenschappen maken het een robuust platform voor het bestuderen van de interactie tussen deze cruciale pathways en voor het identificeren van potentiële therapeutische targets in Wilms tumoren met een stromale component.

Weefsel	Nieren
Ziekte	Wilms tumor

Toepassingen

In vitro celkweekmodel. Biochemische onderzoeken

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Man
Groei-eigenschappen	Aanhanger
Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Spilvormig
Celtype	Wilms cellen

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

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

Wilms8 (Cytion catalogusnummer 300416)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Mutatieprofiel

WT1 mutatiestatus: homozygoot c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1 mutatiestatus: heterozygoot TCT>GCT, p.S45A

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

MSCGM-kit (van Lonza)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.
Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	8 maanden
Etnische afkomst	Kaukasisch

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes

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