Wilms8

300416

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa Wilms8 została uzyskana z pierwotnego guza Wilmsa u pacjenta pediatrycznego z mutacją germinalną WT1. Ta linia komórkowa charakteryzuje się homozygotyczną mutacją nonsensowną w genie WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), prowadzącą do całkowitej utraty funkcji WT1. WT1 ma kluczowe znaczenie dla prawidłowego rozwoju nerek, a jego inaktywacja jest powszechną cechą niektórych agresywnych podtypów guza Wilmsa, szczególnie tych, które wykazują różnicowanie mezenchymalne. Wilms8 stanowi zatem cenny model do badania wpływu utraty WT1 na nowotworzenie, szczególnie w kontekście guzów Wilmsa, które powstają z wyraźnym komponentem zrębu.
Oprócz mutacji WT1, komórki Wilms8 zawierają mutację w genie CTNNB1 (p.S45A), który koduje β-kateninę, kluczowy regulator szlaku sygnałowego Wnt. Mutacja przy serynie 45 zaburza normalny proces fosforylacji, który prowadzi do degradacji β-kateniny, powodując jej stabilizację i akumulację w jądrze. Skutkuje to konstytutywną aktywacją sygnalizacji Wnt, która napędza proliferację komórek i przyczynia się do onkogennych właściwości linii komórkowej Wilms8. Wzajemne oddziaływanie między utratą WT1 a nieprawidłową sygnalizacją Wnt w Wilms8 sprawia, że jest to kluczowy model do zrozumienia mechanizmów molekularnych leżących u podstaw tych szlaków w biologii guza Wilmsa.
Komórki Wilms8 wykazują fenotyp mezenchymalny, charakteryzujący się ekspresją wimentyny i brakiem markerów nabłonkowych, takich jak cytokeratyna. Jest to zgodne z różnicowaniem zrębu obserwowanym w pierwotnym guzie. Komórki wykazują ograniczoną zdolność do dalszego różnicowania mezenchymalnego, takiego jak tworzenie komórek mięśniopodobnych w określonych warunkach. Analizy proteomiczne Wilmsa8 ujawniły aktywację wielu receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK), w tym PDGFRβ i AXL, które są zaangażowane w kluczowe procesy, takie jak przeżycie komórek, migracja i proliferacja. Aktywacja dalszych szlaków sygnałowych, w szczególności szlaków MAPK i PI3K/AKT, dodatkowo przyczynia się do agresywnych cech komórek Wilms8.
Ogólnie rzecz biorąc, linia komórkowa Wilms8 służy jako podstawowe narzędzie do badania molekularnych podstaw guza Wilmsa spowodowanego utratą WT1 i nieprawidłową sygnalizacją Wnt. Jej cechy genetyczne i fenotypowe sprawiają, że jest to solidna platforma do badania interakcji między tymi krytycznymi szlakami i do identyfikacji potencjalnych celów terapeutycznych w guzach Wilmsa z komponentem zrębu.

Chusteczka	Nerka
Choroba	Guz Wilmsa

Zastosowania

Model hodowli komórkowej in vitro. Badania biochemiczne

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Mężczyzna
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Wrzecionowaty kształt
Typ komórki	Komórki Wilmsa

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

IDENTYFIKATORY

Źródło

Wilms8 (numer katalogowy Cytion 300416)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Profil mutacji

Status mutacji WT1: homozygotyczny c.1168C>T, p.390x, LOH: , Status mutacji CTNNB1: heterozygotyczny TCT>GCT, p.S45A

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

Zestaw MSCGM (od Lonza)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.
Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	8 miesięcy
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes