Wilms8

300416

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

Wilms8-cellinjen härrör från en primär Wilms-tumör hos en pediatrisk patient med en WT1-mutation i arvsmassan. Denna cellinje kännetecknas av en homozygot nonsensmutation i WT1-genen (c.1168 C>T, p.R390X), vilket leder till en fullständig förlust av WT1-funktionen. WT1 är avgörande för normal njurutveckling och dess inaktivering är ett vanligt inslag i vissa aggressiva subtyper av Wilms tumör, särskilt de som uppvisar mesenkymal differentiering. Wilms8 utgör därför en värdefull modell för att studera effekterna av WT1-förlust på tumörutvecklingen, särskilt i samband med Wilms-tumörer som uppkommer med en uttalad stromal komponent.
Förutom WT1-mutationen har Wilms8-cellerna en mutation i CTNNB1-genen (p.S45A), som kodar för β-katenin, en viktig regulator av Wnt-signalvägen. Mutationen på serin 45 stör den normala fosforyleringsprocessen som leder till nedbrytning av β-Catenin, vilket gör att det stabiliseras och ansamlas i cellkärnan. Detta resulterar i en konstitutiv aktivering av Wnt-signalering, vilket driver cellproliferation och bidrar till de onkogena egenskaperna hos Wilms8-cellinjen. Samspelet mellan WT1-förlust och avvikande Wnt-signalering i Wilms8 gör den till en viktig modell för att förstå de molekylära mekanismer som ligger bakom dessa vägar i Wilms tumörbiologi.
Wilms8-cellerna uppvisar en mesenkymal fenotyp, som kännetecknas av uttryck av vimentin och avsaknad av epitelmarkörer som cytokeratin. Detta stämmer överens med den stromala differentiering som observerades i den ursprungliga tumören. Cellerna uppvisar en begränsad förmåga att genomgå ytterligare mesenkymal differentiering, till exempel att bilda muskelliknande celler under specifika förhållanden. Proteomiska analyser av Wilms8 har visat att flera receptortyrosinkinaser (RTK) aktiveras, bland annat PDGFRβ och AXL, vilka är involverade i viktiga processer som cellöverlevnad, migration och proliferation. Aktiveringen av nedströms signalvägar, i synnerhet MAPK- och PI3K/AKT-vägarna, bidrar ytterligare till Wilms8-cellernas aggressiva egenskaper.
Sammantaget fungerar Wilms8-cellinjen som ett viktigt verktyg för att undersöka den molekylära grunden för Wilms-tumör som drivs av WT1-förlust och avvikande Wnt-signalering. Dess genetiska och fenotypiska egenskaper gör den till en robust plattform för att studera samspelet mellan dessa kritiska signalvägar och för att identifiera potentiella terapeutiska mål i Wilms-tumörer med en stromal komponent.

Vävnad	Njurar
Sjukdom	Wilms tumör

Ansökningar

In vitro cellodlingsmodell. Biokemiska studier

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Man
Tillväxtegenskaper	Följsam
Biosäkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Spindelformad
Celltyp	Wilms-celler

IDENTIFIERARE

Källa

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

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Mutationsprofil

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

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

MSCGM-kit (från Lonza)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.
Dissociationsmedel	Accutase

Vidareodling

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Upptining och odling

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 OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Donatorns ålder	8 månader
Etnicitet	Kaukasisk

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytіon står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal om materialöverföring krävs	Yes