

Wilms10M-Zellen | 300418

Allgemeine Informationen

Description

Die Wilms10M-Zelllinie wurde aus einem metastasierenden Lungenknoten eines Patienten mit Wilms-Tumor (Nephroblastom) hergestellt. Wie das Gegenstück zum Primärtumor, Wilms10T, ist die Wilms10M-Zelllinie durch eine homozygote Deletion des WT1-Gens gekennzeichnet, was zu einem vollständigen Fehlen des WT1-Proteins führt. WT1 ist für die normale Entwicklung der Niere unerlässlich, und seine Deletion wird mit einem aggressiveren Tumorverhalten in Verbindung gebracht, insbesondere in metastatischen Situationen. Darüber hinaus weisen Wilms10M-Zellen einen Verlust an Heterozygotie (LOH) in der chromosomalen Region 11p15 auf, in der sich das IGF2-Gen befindet, was ebenfalls zu den bösartigen Eigenschaften dieser Zellen beiträgt.

Wilms10M-Zellen weisen einen stabilen Karyotyp ohne größere chromosomale Umlagerungen auf, abgesehen von der spezifischen Deletion der WT1-Region. Diese Zelllinie, die aus metastatischem Gewebe stammt, ist besonders wertvoll für die Untersuchung der molekularen Mechanismen, die die Metastasierung bei Wilms-Tumoren vorantreiben. Die Zellen weisen mesenchymale Eigenschaften auf, indem sie Marker wie Vimentin exprimieren, während ihnen epitheliale Marker wie Cytokeratin fehlen, was auf ihre Herkunft aus der Stromakomponente des Tumors hinweist.

Die Forschung zu Wilms10M hat sich auf die Signalwege konzentriert, die in diesen metastatischen Zellen aktiv sind. Proteomanalysen haben die Aktivierung mehrerer Rezeptortyrosinkinasen (RTKs) gezeigt, darunter IGF1R, PDGFRβ und AXL, die an der Förderung des Überlebens, der Proliferation und des metastatischen Potenzials der Zellen beteiligt sind. Die nachgeschalteten MAPK- und PI3K/AKT-Signalwege werden ebenfalls aktiviert und spielen eine Schlüsselrolle bei der Aufrechterhaltung des invasiven und metastatischen Phänotyps der Wilms10M-Zellen. Aufgrund seines metastatischen Ursprungs ist Wilms10M ein wichtiges Modell für das Verständnis der molekularen Vorgänge, die der Metastasierung von Wilms-Tumoren zugrunde liegen, und für die Entwicklung gezielter therapeutischer Strategien gegen metastatische Erkrankungen.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Wilms-Tumor

Applications In-vitro-Zellkulturmodell. Biochemische Studien

Synonyms Wilms10

Merkmale

Age 2 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

Wilms10M-Zellen | 300418**Morphology** Spindelförmig**Cell type** Wilms-Zellen**Growth properties** Adhärent**Regulatorische Daten****Citation** Wilms10M (Cytion Katalognummer 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekulare Daten****Mutational profile** WT1-Mutationsstatus: homozygot del WT1 innerhalb del11p13. LOH: keine in 11p13, aber UPD in 11p15.
CTNNB1-Mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Handhabung****Culture Medium** MSCGM-Kit (von Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Wilms10M-Zellen | 300418

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Wilms10M-Zellen | 300418

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,12
D16S539: 9,10
D5S818: 10,12
D7S820: 11,12
TH01: 8,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,18
D3S1358: 17,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,16
Penta E: 7,10
Penta D: 10,13
D8S1179: 10,15
FGA: 22,24