

ImWilms10T Zellen | 300419

Allgemeine Informationen

Description

Die imWilms10T-Zelllinie ist eine immortalisierte Variante der primären Wilms10T-Tumorzelllinie, die aus einer Wilms-Tumorprobe (Nephroblastom) eines pädiatrischen Patienten gewonnen wurde. Diese Zelllinie zeichnet sich durch eine homozygote Deletion des WT1-Gens aus, was zu einem vollständigen Verlust der WT1-Proteinfunktion führt. WT1 ist ein entscheidendes Gen für die Nierenentwicklung, und seine Deletion in imWilms10T spiegelt eine schwere genetische Störung wider, die mit der Pathogenese des Wilms-Tumors in Verbindung gebracht wird. Zusätzlich zur WT1-Deletion weisen imWilms10T-Zellen einen Verlust an Heterozygotie (LOH) in der chromosomalen Region 11p15 auf, die Schlüsselgene wie IGF2 enthält und zum aggressiven Verhalten des Tumors beiträgt.

Um die begrenzte Lebensdauer der Wilms10T-Zellen zu überwinden, wurde die imWilms10T-Zelllinie durch die Einführung eines dreifach mutierten SV40 Large T Antigens (U19dl89-97tsA58) in die ursprünglichen Tumorzellen hergestellt. Dieser Immortalisierungsprozess ermöglicht es den imWilms10T-Zellen, sich unbegrenzt zu vermehren und dabei die Chromosomenstabilität zu erhalten, so dass sie ein zuverlässiges Modell für Langzeitstudien darstellen. Die imWilms10T-Zellen behalten die kritischen Merkmale der elterlichen Wilms10T-Linie bei, einschließlich des vollständigen Verlusts von WT1 und des Vorhandenseins von LOH bei 11p15, was sie zu einer unschätzbaren Ressource für die Untersuchung der molekularen Folgen der WT1-Deletion und der damit verbundenen tumorerzeugenden Prozesse macht.

Die imWilms10T-Zellen wurden eingehend auf ihre Beteiligung an wichtigen Signalwegen untersucht, die die Tumorprogression vorantreiben. Proteomanalysen haben gezeigt, dass diese Zellen eine Phosphorylierung und Aktivierung mehrerer Rezeptortyrosinkinasen (RTKs), wie IGF1R, PDGFRβ und AXL, aufweisen. Diese aktivierten Rezeptoren signalisieren über nachgeschaltete Wege, einschließlich der MAPK- und PI3K/AKT-Wege, die für die Aufrechterhaltung des bösartigen Phänotyps der Zellen entscheidend sind. Die imWilms10T-Zelllinie dient als wichtiges Instrument zur Untersuchung der Auswirkungen eines vollständigen WT1-Verlusts auf die zelluläre Signalübertragung, das Tumorstadium und potenzielle therapeutische Ziele bei Wilms-Tumoren, insbesondere bei aggressiveren Tumorsubtypen.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Wilms-Tumor

Synonyms ImWilms10 T, IM-WT-10

Merkmale

Age 2 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

ImWilms10T Zellen | 300419**Morphology** Spindelförmig**Cell type** Wilms-Zellen**Growth properties** Adhärent**Regulatorische Daten****Citation** ImWilms10T (Cytion Katalognummer 300419)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DF34**Depositor** B. Royer-Pokora**GMO Status** GMO-S1: Dieses imWilms10T-Derivat enthält dasselbe dreifach mutierte SV40-T-Antigen, das eine konditionale Immortalisierung für die pädiatrische Nierentumorbiologie ermöglicht. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.**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

ImWilms10T Zellen | 300419

Subculturing

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten 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.

Fluid renewal

1 bis 2 Mal pro Woche

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 °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 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen 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.

ImWilms10T Zellen | 300419

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, 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 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

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.

ImWilms10T Zellen | 300419

STR-Profil

Amelogenin: x,x
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

HLA-Allele

A*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '18:01:01, '27:05:02
C*: '01:02:01, '12:03:01
DRB1*: '01:01:01, '11:04:01
DQA1*: '01:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01