

Wilms10T-Zellen | 300417

Allgemeine Informationen

Description

Die Wilms10T-Zelllinie wurde aus einer primären Wilms-Tumorprobe gewonnen, die einem Patienten mit Wilms-Tumor, einem pädiatrischen Nephroblastom, entnommen wurde. Diese Zelllinie zeichnet sich durch eine homozygote Deletion des WT1-Gens aus, was zu einem vollständigen Verlust der WT1-Funktion führt, einem kritischen Gen, das an der Nierenentwicklung und der Aufrechterhaltung der normalen Nierendifferenzierung beteiligt ist. Im Gegensatz zu vielen anderen Wilms-Tumor-Zelllinien fehlt bei Wilms10T jegliche WT1-Proteinexpression, was die schweren genetischen Veränderungen dieses Tumorsubtyps widerspiegelt. Darüber hinaus weist die Wilms10T-Zelllinie einen Verlust an Heterozygotie (LOH) in der chromosomalen Region 11p15 auf, in der wichtige Gene wie IGF2 liegen, was weiter zu ihren tumorigenen Eigenschaften beiträgt.

Wilms10T-Zellen haben einen stabilen normalen Karyotyp ohne größere chromosomale Umlagerungen mit Ausnahme der spezifischen Deletion der WT1-Region. Diese Zelllinie wurde ausgiebig genutzt, um die Auswirkungen des vollständigen WT1-Verlusts auf die Tumorbilologie zu untersuchen, einschließlich der Auswirkungen auf die Zellproliferation, die Differenzierung und die Reaktion auf verschiedene Signalübertragungswege. Die Zellen behalten mesenchymale Eigenschaften und exprimieren Marker wie Vimentin, während ihnen epitheliale Marker wie Cytokeratin fehlen, was auf ihren stromalen Ursprung hinweist.

Bedeutende Forschungsarbeiten haben sich auf die Signalwege konzentriert, die in Wilms10T-Zellen aktiv sind. Proteomische Studien haben gezeigt, dass diese Zellen eine Aktivierung mehrerer Rezeptor-Tyrosinkinasen (RTKs) wie IGF1R, PDGFR β und AXL aufweisen, die bekanntermaßen die Tumorentstehung fördern. Darüber hinaus werden in Wilms10T-Zellen nachgeschaltete Signalwege, darunter der MAPK- und der PI3K/AKT-Signalweg, aktiviert, was zu ihrem aggressiven Tumorphänotyp beiträgt. Die umfassende Charakterisierung von Wilms10T macht sie zu einem wertvollen Modell für die Untersuchung der molekularen Grundlagen von Wilms-Tumoren mit vollständigem WT1-Verlust sowie für die Erforschung potenzieller therapeutischer Ziele bei diesem aggressiven Tumorsubtyp.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Wilms-Tumor

Applications In-vitro-Zellkulturmodell und biochemische Untersuchungen

Synonyms Wilms10

Merkmale

Age 2 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

Wilms10T-Zellen | 300417**Morphology** Spindelförmig**Cell type** Wilms-Zellen**Growth properties** Adhärent**Regulatorische Daten****Citation** Wilms10T (Cytion Katalognummer 300417)**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**Doubling time** 46 Stunden**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.

Wilms10T-Zellen | 300417

Seeding density 4 x 10⁴ Zellen/cm²

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 werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenen 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%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

Wilms10T-Zellen | 300417

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.

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

Wilms10T-Zellen | 300417

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