ImWilms10T

300419

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De imWilms10T cellijn is een geïmmortaliseerde variant van de Wilms10T primaire tumorcellijn, die is afgeleid van een Wilms tumor (nefroblastoom) van een pediatrische patiënt. Deze cellijn wordt gekenmerkt door een homozygote deletie van het WT1-gen, wat resulteert in een volledig verlies van de WT1-eiwitfunctie. WT1 is een cruciaal gen voor de ontwikkeling van de nieren en de deletie ervan in imWilms10T weerspiegelt een ernstige genetische verstoring die geassocieerd wordt met de pathogenese van Wilms tumor. Naast de WT1-deletie vertonen imWilms10T cellen verlies van heterozygositeit (LOH) in het 11p15 chromosomale gebied, dat belangrijke genen zoals IGF2 bevat, wat bijdraagt aan het agressieve gedrag van de tumor.
Om de beperkte levensduur van de Wilms10T-cellen te overwinnen, werd de imWilms10T-cellijn gemaakt door een drievoudig gemuteerd SV40-groot T-antigeen (U19dl89-97tsA58) in de oorspronkelijke tumorcellen te introduceren. Dit immortalisatieproces stelt imWilms10T cellen in staat om zich onbeperkt te vermenigvuldigen met behoud van chromosomale stabiliteit, waardoor een betrouwbaar model ontstaat voor langetermijnstudies. De imWilms10T cellen behouden de kritische eigenschappen van de ouderlijke Wilms10T lijn, inclusief het volledige verlies van WT1 en de aanwezigheid van LOH op 11p15, waardoor ze van onschatbare waarde zijn voor het bestuderen van de moleculaire gevolgen van WT1 deletie en de bijbehorende tumorigene processen.
imWilms10T cellen zijn uitgebreid bestudeerd op hun betrokkenheid bij belangrijke signaalroutes die tumorgroei stimuleren. Proteomische analyses hebben aangetoond dat deze cellen fosforylering en activatie van verschillende receptor tyrosine kinases (RTK's) vertonen, zoals IGF1R, PDGFRβ en AXL. Deze geactiveerde receptoren geven signalen af via downstream pathways, waaronder de MAPK en PI3K/AKT pathways, die cruciaal zijn voor het in stand houden van het kwaadaardige fenotype van de cellen. De imWilms10T cellijn dient als een belangrijk instrument voor het onderzoeken van de invloed van volledig WT1 verlies op cellulaire signalering, tumorgroei en potentiële therapeutische doelen in Wilms tumor, met name voor meer agressieve tumor subtypes.

Weefsel	Nieren
Ziekte	Wilms tumor

Synoniemen

- ImWilms10 T
- IM-WT-10

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Vrouw
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-status

GMO-S1: This imWilms10T derivative contains the same triple-mutant SV40 T-antigen enabling conditional immortalization for pediatric kidney tumor biology. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Spilvormig
Celtype	Wilms cellen

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

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

ImWilms10T (Cytion catalogusnummer 300419)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_DF34

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Mutatieprofiel

WT1 mutatiestatus: homozygoot del WT1 binnen del11p13, LOH: geen in 11p13 maar UPD in 11p15, CTNNB1 mutatiestatus: homozygoot del TCT, p.DS45, UPD 3p

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

MSCGM-kit (van Lonza)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.
Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Vloeistofverversing	1 tot 2 keer per week

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	2 jaar
Etnische afkomst	Kaukasisch

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes

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