ImWilms10T

300419

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular imWilms10T é uma variante imortalizada da linhagem celular tumoral primária Wilms10T, derivada de uma amostra de tumor de Wilms (nefroblastoma) de um paciente pediátrico. Essa linhagem celular se distingue por uma deleção homozigótica do gene WT1, resultando na perda completa da função da proteína WT1. O WT1 é um gene crucial para o desenvolvimento renal, e sua deleção na imWilms10T reflete uma grave alteração genética associada à patogênese do tumor de Wilms. Além da deleção do WT1, as células imWilms10T apresentam perda de heterozigosidade (LOH) na região cromossômica 11p15, que inclui genes-chave como o IGF2, contribuindo para o comportamento agressivo do tumor.
Para superar a vida útil limitada das células Wilms10T, a linhagem celular imWilms10T foi estabelecida por meio da introdução de um antígeno T grande do SV40 com mutação tripla (U19dl89-97tsA58) nas células tumorais originais. Esse processo de imortalização permite que as células imWilms10T proliferem indefinidamente, mantendo a estabilidade cromossômica, proporcionando assim um modelo confiável para estudos de longo prazo. As células imWilms10T mantêm as características essenciais da linhagem parental Wilms10T, incluindo a perda completa do WT1 e a presença de LOH em 11p15, tornando-as um recurso inestimável para o estudo das consequências moleculares da deleção do WT1 e dos processos tumorigênicos associados.
As células imWilms10T têm sido amplamente estudadas por seu envolvimento em vias de sinalização-chave que impulsionam a progressão tumoral. Análises proteômicas revelaram que essas células apresentam fosforilação e ativação de vários receptores de tirosina quinase (RTKs), como IGF1R, PDGFRβ e AXL. Esses receptores ativados transmitem sinais por meio de vias a jusante, incluindo as vias MAPK e PI3K/AKT, que são cruciais para a manutenção do fenótipo maligno das células. A linhagem celular imWilms10T serve como uma importante ferramenta para investigar o impacto da perda completa do WT1 na sinalização celular, no crescimento tumoral e em potenciais alvos terapêuticos no tumor de Wilms, particularmente para subtipos tumorais mais agressivos.

Tissue	Rim
Disease	Tumor de Wilms

Synonyms

- ImWilms10 T
- IM-WT-10

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Em forma de fuso
Cell type	Células de Wilms

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

IDENTIFIERS

Citation

ImWilms10T (número de catálogo da Cytion 300419)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_DF34

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

Status da mutação no WT1: deleção homozigótica do WT1 dentro da deleção em 11p13; LOH: ausente em 11p13, mas com UPD em 11p15; status da mutação no CTNNB1: deleção homozigótica do TCT, p.DS45; UPD em 3p

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

Kit MSCGM (da Lonza)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Fluid renewal	1 a 2 vezes por semana

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	2 anos
Ethnicity	caucasiano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão viáveis no início da cultura por
60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no
Certificado de Análise e/ou na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes