ImWilms10T

300419

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

Cellinjen imWilms10T är en odödliggjord variant av den primära tumörcellinjen Wilms10T, som härrör från ett prov från en Wilms-tumör (nefroblastom) hos en pediatrisk patient. Denna cellinje kännetecknas av en homozygot deletion av WT1-genen, vilket resulterar i en fullständig förlust av WT1-proteinets funktion. WT1 är en gen som är avgörande för njurarnas utveckling och dess deletion i imWilms10T återspeglar en allvarlig genetisk störning som är förknippad med patogenesen för Wilms tumör. Utöver WT1-deletionen uppvisar imWilms10T-cellerna förlust av heterozygoti (LOH) i kromosomregion 11p15, som inkluderar nyckelgener som IGF2, vilket bidrar till tumörens aggressiva beteende.
För att övervinna Wilms10T-cellernas begränsade livslängd etablerades cellinjen imWilms10T genom att införa en trippelmutant SV40 large T-antigen (U19dl89-97tsA58) i de ursprungliga tumörcellerna. Denna odödlighetsprocess gör det möjligt för imWilms10T-cellerna att föröka sig på obestämd tid med bibehållen kromosomstabilitet, vilket ger en tillförlitlig modell för långtidsstudier. ImWilms10T-cellerna bibehåller de kritiska egenskaperna hos Wilms10T-föräldralinjen, inklusive den fullständiga förlusten av WT1 och förekomsten av LOH vid 11p15, vilket gör dem till en ovärderlig resurs för att studera de molekylära konsekvenserna av WT1-deletion och de associerade tumörframkallande processerna.
imWilms10T-celler har studerats ingående för sin inblandning i viktiga signalvägar som driver tumörprogression. Proteomiska analyser har visat att dessa celler uppvisar fosforylering och aktivering av flera receptortyrosinkinaser (RTK), såsom IGF1R, PDGFRβ och AXL. Dessa aktiverade receptorer signalerar genom nedströmsvägar, inklusive MAPK- och PI3K/AKT-vägarna, som är avgörande för att upprätthålla cellernas maligna fenotyp. Cellinjen imWilms10T är ett viktigt verktyg för att undersöka effekterna av fullständig WT1-förlust på cellsignalering, tumörtillväxt och potentiella terapeutiska mål i Wilms tumör, särskilt för mer aggressiva tumörundertyper.

Vävnad	Njurar
Sjukdom	Wilms tumör

Synonymer

- ImWilms10 T
- IM-WT-10

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Kvinna
Tillväxtegenskaper	Följsam
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-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.

Biosäkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Spindelformad
Celltyp	Wilms-celler

IDENTIFIERARE

Källa

ImWilms10T (Cytion katalognummer 300419)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_DF34

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Mutationsprofil

WT1-mutationsstatus: homozygot del WT1 inom del11p13, LOH: ingen i 11p13 men UPD i 11p15, CTNNB1-mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45, UPD 3p

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

MSCGM-kit (från Lonza)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.
Dissociationsmedel	Accutase

Vidareodling

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Vätskeförnyelse	1 till 2 gånger per vecka

Upptining och odling

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.

KVALITETSKONTROLL OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Donatorns ålder	2 år
Etnicitet	Kaukasisk

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal om materialöverföring krävs	Yes