

## Wilms1-Zellen | 300411

### Allgemeine Informationen

#### Description

Die Wilms1-Zelllinie wurde aus einer primären Wilms-Tumorprobe gewonnen, die von einem Patienten mit großen bilateralen Nierentumoren stammt, die auf einen Wilms-Tumor, ein pädiatrisches Nephroblastom, hinweisen. Diese Zelllinie weist eine homozygote Nonsense-Mutation im WT1-Gen auf (c.149 C>A, p.S50X), die zu einem verkürzten und nicht funktionsfähigen WT1-Protein führt. Das WT1-Gen, das für die Entwicklung und Funktion der Niere von entscheidender Bedeutung ist, ist bei Wilms-Tumoren häufig mutiert, insbesondere bei solchen mit einem stromalen Subtyp, der eine ektopische mesenchymale Differenzierung aufweist. Wilms1-Zellen stellen daher ein einzigartiges In-vitro-Modell dar, um die Folgen des Funktionsverlusts von WT1 in der Tumorbilogie zu untersuchen.

Die Wilms1-Zelllinie weist einen stabilen Karyotyp ohne signifikante Chromosomenanomalien auf, was eine zuverlässige Langzeitkultur ermöglicht. Diese Zellen weisen einen mesenchymalen Phänotyp auf, der durch die Expression von Vimentin und das Fehlen epithelialer Marker wie Cytokeratin gekennzeichnet ist, was mit ihrem stromalen Ursprung übereinstimmt. Außerdem zeigt die Zelllinie eine begrenzte, aber bemerkenswerte mesenchymale Differenzierungsfähigkeit, einschließlich der Fähigkeit, sich unter geeigneten Bedingungen in muskelähnliche Zellen zu differenzieren. Dies macht Wilms1 zu einem unschätzbaren Werkzeug für die Untersuchung der molekularen Mechanismen der mesenchymalen Differenzierung und ihrer Deregulierung bei der Pathogenese von Wilms-Tumoren.

Wilms1 wurde auch verwendet, um den Aktivierungsstatus von wichtigen Signalwegen zu untersuchen, die an der Tumorprogression beteiligt sind. Proteomanalysen haben gezeigt, dass Wilms1-Zellen eine Phosphorylierung und Aktivierung verschiedener Rezeptortyrosinkinasen, einschließlich EGFR und PDGFRβ, sowie nachgeschalteter MAPK-Signalwege aufweisen. Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung der Wilms1-Zelllinie für die Erforschung gezielter therapeutischer Ansätze für Wilms-Tumore, indem die Rolle dieser Signalwege für das Überleben, die Proliferation und die Differenzierung von Krebszellen untersucht wird.

**Organism** Menschen

**Tissue** Niere

**Applications** In-vitro-Zellkulturmodell. Biochemische Studien

**Synonyms** Wilms1-2l

### Merkmale

**Age** 2 Jahre

**Gender** Weiblich

**Ethnicity** Kaukasisch

**Morphology** Spindelförmig

**Wilms1-Zellen | 300411****Cell type** Wilms-Zellen**Growth properties** Adhärent**Regulatorische Daten****Citation** Wilms1 (Cytion Katalognummer 300411)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SC**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekulare Daten****Receptors expressed** Rezeptor-Tyrosin-Kinasen EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL**Tumorigenic** Ja, in Nacktmäusen. Bildet Tumor mit kleinen Zellen, die dem Wilms-Tumor entsprechen (Xenotransplantate repräsentieren Wilms-Tumore möglicherweise nicht vollständig, siehe E. Kuncz Stroup 2017)**Viruses** HIV-1: negativ, HBV: negativ, HCV: negativ**Mutational profile** WT1-Mutationsstatus: homozygot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-Mutationsstatus: heterozygot TCT>TTT, p.S45F**Karyotype** 46, normal**Handhabung****Culture Medium** MSCGM-Kit (von Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 Stunden

## Wilms1-Zellen | 300411

**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen 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.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 1 bis 2 Mal pro Woche

**Post-Thaw Recovery** Schnell

**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.

## Wilms1-Zellen | 300411

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$ , 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 adhären 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

## Wilms1-Zellen | 300411

### 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,x  
**CSF1PO:** 10,12  
**D13S317:** 11,13  
**D16S539:** 11,14  
**D5S818:** 12,13,14  
**D7S820:** 9,14  
**TH01:** 9.3  
**TPOX:** 8,9  
**vWA:** 14,19  
**D3S1358:** 14,17,18  
**D21S11:** 30,31  
**D18S51:** 15,18  
**Penta E:** 5,14  
**Penta D:** 13  
**D8S1179:** 12,14  
**FGA:** 22,25

### HLA-Allele

**A\*:** '03:01:01, '24:02:01  
**B\*:** '35:03:01, '38:01:01  
**C\*:** '12:03:01  
**DRB1\*:** '07:01:01, '14:54:01  
**DQA1\*:** '01:04:01, '02:01:01  
**DQB1\*:** '02:02:01, '05:03:01  
**DPB1\*:** '02:01:02G, '04:02:01G  
**E:** '01:03:01, '01:03:02