

Wilms3-Zellen | 300414

Allgemeine Informationen

Description

Die Wilms3-Zelllinie wurde aus einem primären Wilms-Tumor eines pädiatrischen Patienten gewonnen, der durch eine somatische WT1-Mutation gekennzeichnet ist. Im Gegensatz zu vielen anderen Wilms-Tumor-Zelllinien weist Wilms3 eine heterozygote Frameshift-Mutation im WT1-Gen (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87) auf, die zur Produktion eines verkürzten WT1-Proteins führt. Dieser teilweise Verlust der WT1-Funktion wird mit der Entwicklung von Tumoren in Verbindung gebracht, die einen stromalen oder mesenchymalen Phänotyp aufweisen. Die WT1-Mutation in Wilms3 ist jedoch nicht homozygot, was die Untersuchung noch komplexer macht, da eine gewisse WT1-Funktion erhalten bleibt, die die Tumorbilogie anders beeinflussen kann als bei Zelllinien mit vollständigem WT1-Verlust.

Wilms3 trägt auch eine Mutation im CTNNB1-Gen, die speziell das Threonin 41 (p.T41A) betrifft, das eine entscheidende Rolle im Wnt-Signalweg spielt. Diese Mutation stabilisiert β -Catenin, verhindert seinen Abbau und führt zu einer konstitutiven Aktivierung des Wnt-Signalwegs. Die anhaltende Aktivierung des Wnt-Signalwegs treibt die Zellproliferation an und trägt zur Tumorentstehung in Wilms3 bei, was es zu einem Schlüsselmodell für die Untersuchung der Auswirkungen von CTNNB1-Mutationen im Zusammenhang mit einem teilweise funktionalen WT1-Hintergrund macht.

Phänotypisch weisen Wilms3-Zellen eine mesenchymal-ähnliche Morphologie auf, die Vimentin exprimiert und kein Zytokeratin aufweist, was mit den im ursprünglichen Tumor beobachteten stromalen Eigenschaften übereinstimmt. Diese Zellen weisen ein begrenztes Differenzierungspotenzial auf und sind in der Lage, sich unter bestimmten Bedingungen mesenchymal zu differenzieren. Proteomanalysen von Wilms3 haben die Aktivierung mehrerer Rezeptortyrosinkinasen (RTKs), darunter PDGFR β und AXL, gezeigt, die das Überleben und die Vermehrung der Zellen unterstützen. Außerdem werden nachgeschaltete Signalwege wie MAPK und PI3K/AKT aktiviert, was die bösartigen Eigenschaften der Wilms3-Zellen verstärkt.

Ein einzigartiger Aspekt von Wilms3 ist seine partielle WT1-Funktionalität, die eine andere Perspektive auf die Frage eröffnet, wie WT1-Mutationen zur Biologie des Wilms-Tumors beitragen, wenn die Mutation nicht vollständig ist. Das Zusammenspiel von WT1 und Wnt-Signalen in Wilms3 bietet eine wertvolle Gelegenheit, die differenzierte Rolle dieser Signalwege bei der Tumorentwicklung zu untersuchen. Insgesamt dient Wilms3 als wichtiges Modell für die Untersuchung der molekularen Mechanismen, die dem Wilms-Tumor bei partiellem WT1-Verlust und konstitutiver Aktivierung des Wnt-Signalwegs zugrunde liegen.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Wilms-Tumor

Applications In-vitro-Zellkulturmodell. Biochemische Studien

Merkmale

Age 11-12 Monate

Gender Männlich

Wilms3-Zellen | 300414

Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Spindelförmig
Cell type	Wilms-Zellen
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Citation	Wilms3 (Cytion Katalognummer 300414)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SF
Depositor	B. Royer-Pokora

Biomolekulare Daten

Mutational profile	WT1-Mutationsstatus: homozygot c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-Mutationsstatus: Wildtyp
---------------------------	---

Handhabung

Culture Medium	MSCGM-Kit (von Lonza)
Dissociation Reagent	Accutase
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.

Wilms3-Zellen | 300414

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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°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 adhärennten 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% 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.

Wilms3-Zellen | 300414

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: 12,13
D16S539: 9,11
D5S818: 9,9
D7S820: 10,11
TH01: 6,6
TPOX: 8,8
vWA: 16,17
D3S1358: 15,16
D21S11: 29,31
D18S51: 13,17
Penta E: 7,10
Penta D: 9,13
D8S1179: 10,11
FGA: 22,24

HLA-Allele

A*: '03:01:01
B*: '35:01:01, '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:03:01, '11:04:01
DQA1*: '03:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '03:02:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:03:02, '01:06:01