

imWilms1 Zellen | 300412

Allgemeine Informationen

Description

Die Wilms1-Zelllinie stammt ursprünglich von einem primären Wilms-Tumor, der bei einem Patienten mit großen beidseitigen Nierentumoren diagnostiziert wurde, einer charakteristischen Form des Wilms-Tumors (Nephroblastom). Diese Zelllinie weist eine homozygote Nonsense-Mutation im WT1-Gen auf (c.149 C>A, p.S50X), die zur Bildung eines verkürzten, nicht funktionsfähigen WT1-Proteins führt. WT1 ist ein entscheidendes Gen für die Nierenentwicklung, und seine Mutation steht in engem Zusammenhang mit der Pathogenese des Wilms-Tumors, insbesondere bei Tumoren, die eine stromale Differenzierung aufweisen. Wilms1-Zellen weisen einen stabilen Karyotyp ohne signifikante Chromosomenanomalien auf. Sie sind durch einen mesenchymalen Phänotyp gekennzeichnet, der Vimentin exprimiert, während epitheliale Marker wie Zytokeratin fehlen. Die Linie zeigt eine begrenzte, aber signifikante Fähigkeit zur mesenchymalen Differenzierung, einschließlich der Fähigkeit, sich unter bestimmten Bedingungen in muskelähnliche Zellen zu differenzieren, was sie zu einem wichtigen Modell für die Untersuchung der molekularen Folgen von WT1-Mutationen macht.

Um die begrenzte Lebensdauer der primären Wilms1-Zellen zu überwinden, wurde die imWilms1-Zelllinie durch die Einführung eines dreifach mutierten SV40 large T-Antigens (U19dl89-97tsA58) in die ursprünglichen Tumorzellen etabliert, was ihre Immortalisierung erleichtert. Dank dieser Modifikation können sich imWilms1-Zellen unbegrenzt vermehren und gleichzeitig die Chromosomenstabilität beibehalten, so dass sie ein zuverlässiges Modell für Langzeitstudien darstellen. Die immortalisierten imWilms1-Zellen weisen weiterhin die gleiche WT1-Mutation auf und behalten die mesenchymalen Eigenschaften der Wilms1-Elternlinie.

Zusätzlich zu ihren genetischen und phänotypischen Merkmalen wurde die imWilms1-Zelllinie umfassend auf ihre Signalwegaktivität untersucht. Proteomische Untersuchungen haben die Phosphorylierung und Aktivierung mehrerer Rezeptortyrosinkinasen (RTKs), einschließlich EGFR, PDGFR β und AXL, mit nachgeschalteter Aktivierung der MAPK-Signalwege ergeben. Die konsequente Aktivierung dieser Signalwege in imWilms1-Zellen unterstreicht ihre Bedeutung für die Erforschung gezielter therapeutischer Strategien bei Wilms-Tumoren. Insgesamt dient imWilms1 als robustes und langfristiges Modell für die Untersuchung der molekularen Mechanismen, die der Entwicklung und dem Fortschreiten des Wilms-Tumors zugrunde liegen, insbesondere derjenigen, die durch WT1-Mutationen und abweichende Signalwege angetrieben werden.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Wilms-Tumor

Synonyms IM-WT-1

Merkmale

Age 10 Monate

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

imWilms1 Zellen | 300412

Morphology Spindelförmig

Cell type Wilms-Zellen

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation imWilms1 (Cytion Katalognummer 300412)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SN

Depositor B. Royer-Pokora

GMO Status GMO-S1: Diese humane Wilms-Tumor-Linie imWilms1 enthält eine dreifach mutierte SV40-T-Antigen-Kassette, die eine konditionale Immortalisierung für die Nephroblastomforschung ermöglicht. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Mutational profile WT1-Mutationsstatus: homozygot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-Mutationsstatus: heterozygot TCT>TTT, p.S45F

Handhabung

Culture Medium MSCGM-Kit (von Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

imWilms1 Zellen | 300412

Subculturing

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten 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.

Fluid renewal

1 bis 2 Mal pro Woche

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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300\text{ } \times\text{ } g$, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen 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.

imWilms1 Zellen | 300412

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

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 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

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.

imWilms1 Zellen | 300412

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