

Wilms6-Zellen | 300415

Allgemeine Informationen

Description

Die Wilms6-Zelllinie wurde aus einem primären Wilms-Tumor eines pädiatrischen Patienten mit einer WT1-Keimbahnmutation hergestellt. Diese Zelllinie ist durch eine homozygote Nonsense-Mutation im WT1-Gen (c.1168 C>T, p.R390X) definiert, die zu einem verkürzten und nicht funktionsfähigen WT1-Protein führt. WT1 ist ein entscheidender Regulator der Nierenentwicklung, und sein Verlust wird stark mit Wilms-Tumoren in Verbindung gebracht, insbesondere in Fällen, die eine mesenchymale Differenzierung aufweisen. Die Wilms6-Zelllinie ist ein wichtiges Modell für die Untersuchung der tumor erzeugenden Auswirkungen eines vollständigen WT1-Verlustes, insbesondere im Zusammenhang mit Tumoren, die sowohl epitheliale als auch mesenchymale Merkmale aufweisen.

Wilms6-Zellen tragen auch eine Mutation im CTNNB1-Gen, die speziell Serin 45 (p.S45F) betrifft, eine Schlüsselstelle für die Phosphorylierung, die den β -Catenin-Abbau reguliert. Diese Mutation führt zu einer Stabilisierung und nukleären Akkumulation von β -Catenin, was zu einer konstitutiven Aktivierung des Wnt-Signalwegs führt. Die abnormale Aktivierung des Wnt-Signalwegs ist ein bekannter Treiber der Zellproliferation und Tumorigenese in Wilms-Tumoren, was Wilms6 zu einem wertvollen Instrument für die Untersuchung der Rolle der Dysregulation des Wnt-Signalwegs in Tumoren mit WT1-Mutationen macht.

Phänotypisch weisen Wilms6-Zellen eine mesenchymale Morphologie auf, mit einer starken Expression von Vimentin und dem Fehlen epithelialer Marker wie Cytokeratin, was die stromale Natur des ursprünglichen Tumors widerspiegelt. Es hat sich gezeigt, dass diese Zellen ein begrenztes, aber bemerkenswertes Differenzierungspotenzial besitzen, einschließlich der Fähigkeit, sich unter bestimmten Bedingungen in muskelähnliche Zellen zu differenzieren, was die in einigen Wilms-Tumoren beobachtete mesenchymale Differenzierung widerspiegelt. Proteomische Untersuchungen von Wilms-Tumoren6 haben die Aktivierung mehrerer Rezeptor-Tyrosinkinasen (RTKs), einschließlich PDGFR β und AXL, identifiziert, die an der Förderung des Zellüberlebens, der Proliferation und der Migration beteiligt sind. Die nachgeschaltete Aktivierung von Signalwegen wie MAPK und PI3K/AKT unterstreicht die aggressive Natur dieser Zelllinie.

Insgesamt dient die Wilms6-Zelllinie als wichtiges Modell für die Erforschung der molekularen Mechanismen, die der Entwicklung von Wilms-Tumoren zugrunde liegen, insbesondere bei vollständigem WT1-Verlust in Kombination mit einer Aktivierung der Wnt-Signalwege. Ihre genetischen und phänotypischen Eigenschaften machen sie zu einer ausgezeichneten Plattform für die Untersuchung des Zusammenspiels zwischen WT1-Mangel und abweichenden Signalwegen, was Einblicke in potenzielle therapeutische Ziele für diesen aggressiven Tumortyp bietet.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Wilms-Tumor

Applications In-vitro-Zellkulturmodell. Biochemische Studien

Merkmale

Age 15 Monate

Wilms6-Zellen | 300415

Gender Männlich

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Spindelförmig

Cell type Wilms-Zellen

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation Wilms6 (Cytion Katalognummer 300415)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SI

Depositor B. Royer-Pokora

Biomolekulare Daten

Mutational profile WT1-Mutationsstatus: homozygot c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-Mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45

Handhabung

Culture Medium MSCGM-Kit (von Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Wilms6-Zellen | 300415

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.

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°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 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.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Wilms6-Zellen | 300415

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 °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.

STR-Profil

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 8,11
D16S539: 9,11
D5S818: 8,9
D7S820: 8,11
TH01: 9,9
TPOX: 11,11
vWA: 16,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,30
D18S51: 12,16
Penta E: 8,13
Penta D: 11,11
D8S1179: 11,13
FGA: 22,23

Wilms6-Zellen | 300415

HLA-Allele

A*: '02:05:01, '29:01:01

B*: '07:05:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '15:05:02

DRB1*: '07:01:01, '10:01:01

DQA1*: '01:05:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:01:01

DPB1*: '04:02:01, '17:01:01

E: '01:01:01