

## Wilms2-Zellen | 300413

## Allgemeine Informationen

## Description

Die Wilms2-Zelllinie wurde aus einem primären Wilms-Tumor eines pädiatrischen Patienten mit einer WT1-Keimbahnmutation gewonnen. Diese Zelllinie ist durch eine homozygote Nonsense-Mutation im WT1-Gen (c.1084 C>T, p.R362X) gekennzeichnet, die zur Produktion eines verkürzten, nicht funktionsfähigen WT1-Proteins führt. Der Verlust von funktionellem WT1, einem für die Nierenentwicklung wichtigen Gen, ist ein Kennzeichen bestimmter Subtypen von Wilms-Tumoren, insbesondere solcher, die mit mesenchymaler oder stromaler Differenzierung einhergehen. Die Wilms2-Zelllinie ist ein wichtiges Modell für die Untersuchung der tumorigenen Prozesse, die durch den Verlust von WT1 angetrieben werden, insbesondere im Zusammenhang mit Wilms-Tumoren, die andere kritische genetische Merkmale beibehalten.

Wilms2-Zellen tragen auch Mutationen im CTNBN1-Gen, das für  $\beta$ -Catenin, eine Schlüsselkomponente des Wnt-Signalweges, kodiert. Diese Mutationen, die insbesondere Serin 45 betreffen, führen zu einer Stabilisierung und Akkumulation von  $\beta$ -Catenin, was zu einer konstitutiven Aktivierung des Wnt-Signalwegs führt. Diese Aktivierung ist eine bekannte Triebkraft für die Zellproliferation und Tumorigenese im Wilms-Tumor, was Wilms2 zu einem wertvollen Modell macht, um zu verstehen, wie die aberrante Wnt-Signalübertragung zur Entwicklung und zum Fortschreiten von Tumoren mit WT1-Mutationen beiträgt.

Was den Phänotyp betrifft, so weisen Wilms2-Zellen eine mesenchymähnliche Morphologie auf, die Vimentin exprimiert und keine epithelialen Marker wie Cytokeratin aufweist. Dies stimmt mit den stromalen Eigenschaften des Tumors überein und unterstreicht die Rolle von WT1 bei der Regulierung der mesenchymalen und epithelialen Übergänge während der Nierenentwicklung. Proteomanalysen von Wilms2 haben die Aktivierung mehrerer Rezeptortyrosinkinasen (RTKs), einschließlich PDGFR $\beta$  und AXL, festgestellt, von denen bekannt ist, dass sie das Überleben und die Vermehrung von Tumorzellen fördern. Darüber hinaus werden auch nachgeschaltete Signalwege wie MAPK und PI3K/AKT aktiviert, was weiter zu den bösartigen Eigenschaften der Wilms2-Zellen beiträgt.

Insgesamt ist die Wilms2-Zelllinie ein wichtiges Instrument zur Erforschung der molekularen Mechanismen des Wilms-Tumors, der durch den Verlust von WT1 und eine abweichende Wnt-Signalübertragung ausgelöst wird. Ihre genetischen und phänotypischen Merkmale bieten eine robuste Plattform für die Untersuchung potenzieller therapeutischer Ziele und für das Verständnis der Rolle wichtiger Signalwege in der Pathologie von Wilms-Tumoren mit einer mesenchymalen Komponente.

## Organism

Menschen

## Tissue

Niere

## Disease

Wilms-Tumor

## Applications

In-vitro-Zellkulturmodell. Biochemische Studien

## Merkmale

## Age

1 Jahr

## Gender

Männlich

## Wilms2-Zellen | 300413

<b>Ethnicity</b>	Kaukasisch
<b>Morphology</b>	Spindelförmig
<b>Cell type</b>	Wilms-Zellen
<b>Growth properties</b>	Adhärent

### Regulatorische Daten

<b>Citation</b>	Wilms2 (Cytion Katalognummer 300413)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A5SE
<b>Depositor</b>	B. Royer-Pokora

### Biomolekulare Daten

<b>Mutational profile</b>	WT1-Mutationsstatus: homozygot c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-Mutationsstatus: heterozygot del TCT>TAT, p.S45Y
---------------------------	---

### Handhabung

<b>Culture Medium</b>	MSCGM-Kit (von Lonza)
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.

## Wilms2-Zellen | 300413

### 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 x 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%<sub>CO2</sub>, 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 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

## Wilms2-Zellen | 300413

### 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:** 11,11  
**D13S317:** 9,11  
**D16S539:** 9,9  
**D5S818:** 11,11  
**D7S820:** 10,11  
**TH01:** 6,6  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 15,19  
**D3S1358:** 15,15  
**D21S11:** 29,32.2  
**D18S51:** 12,17  
**Penta E:** 11,15  
**Penta D:** 10,12  
**D8S1179:** 14,16  
**FGA:** 21,21

### HLA-Allele

**A\*:** '01:01:01, '02:01:01  
**B\*:** '15:01:01, '57:01:01  
**C\*:** '03:03:01, '07:01:01  
**DRB1\*:** '04:01:01, '07:01:01  
**DQA1\*:** '02:01:01, '03:01:01  
**DQB1\*:** '03:02:01, '03:03:02  
**DPB1\*:** '04:01:01G, '04:02:01G  
**E:** '01:01:01, '01:03:02