

Wilms11-Zellen | 300420

Allgemeine Informationen

Description

Die Wilms11-Zelllinie wurde aus einem primären Wilms-Tumor (Nephroblastom) eines pädiatrischen Patienten gewonnen. Im Gegensatz zu vielen anderen Wilms-Tumor-Zelllinien zeichnet sich Wilms11 durch das Vorhandensein von Wildtyp-WT1 aus, d. h. sie weist keine Mutationen im WT1-Gen auf, die typischerweise mit Wilms-Tumoren in Verbindung gebracht werden, die aggressivere oder stromale Phänotypen aufweisen. Der Wilms11-Tumor wies jedoch eine signifikante stromale Differenzierung auf, mit großen Bereichen rhabdomyomatöser Differenzierung, was auf mesenchymale Elemente im Tumor hindeutet. Das Vorhandensein von Wildtyp-WT1 in Verbindung mit der stromalen Differenzierung des Tumors bietet ein einzigartiges Modell für das Verständnis der Biologie des Wilms-Tumors in Fällen, in denen keine WT1-Mutationen vorhanden sind.

Genetische Studien an Wilms11 haben gezeigt, dass diese Zelllinie eine tumorspezifische Mutation in CTNNB1 trägt, dem Gen, das für β -Catenin kodiert, das eine entscheidende Rolle im Wnt-Signalweg spielt. In Wilms11 betrifft diese Mutation Serin 45, eine wichtige Phosphorylierungsstelle, die am Abbau von β -Catenin beteiligt ist. Die CTNNB1-Mutation führt zu einer Stabilisierung von β -Catenin, was zu seiner Anhäufung und konstitutiven Aktivierung des Wnt-Signalwegs führt, der für die Zellproliferation und Tumorentstehung verantwortlich ist. Dies macht Wilms11 zu einem wichtigen Modell für die Untersuchung des Zusammenspiels zwischen der Wnt-Signalübertragung und der Entwicklung von Wilms-Tumoren, insbesondere in Fällen, in denen WT1 intakt bleibt.

Proteomanalysen von Wilms11 haben die Aktivierung mehrerer Rezeptortyrosinkinasen (RTKs), einschließlich PDGFR β und AXL, gezeigt, die das Wachstum und Überleben von Tumorzellen fördern. Nachgeschaltete Signalwege, wie der MAPK- und der PI3K/AKT-Signalweg, sind in Wilms11-Zellen ebenfalls aktiviert und tragen zu ihrem tumorigenen Verhalten bei. Die Fähigkeit der Wilms11-Zellen zur mesenchymalen Differenzierung, insbesondere zur rhabdomyomatösen Differenzierung, unterstreicht ihr Potenzial als Modell zur Untersuchung der mesenchymalen Komponenten des Wilms-Tumors. Insgesamt dient Wilms11 als wertvolles Instrument zur Untersuchung der molekularen Mechanismen, die die Wilms-Tumorgenese bei Fehlen von WT1-Mutationen, aber im Zusammenhang mit der Aktivierung des Wnt-Signalwegs vorantreiben.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Wilms-Tumor

Applications In-vitro-Zellkulturmodell. Biochemische Studien

Merkmale

Age 22 Monate

Gender Männlich

Ethnicity Kaukasisch

Wilms11-Zellen | 300420**Morphology** Spindelförmig**Cell type** Wilms-Zellen**Growth properties** Adhärent**Regulatorische Daten****Citation** Wilms11 (Cytion Katalognummer 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekulare Daten****Mutational profile** WT1-Mutationsstatus: homozygot WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . 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.

Wilms11-Zellen | 300420

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.

Wilms11-Zellen | 300420

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: 10,12
D13S317: 12,12
D16S539: 11,12
D5S818: 12,13
D7S820: 8,9
TH01: 6,6
TPOX: 9,11
vWA: 17,18
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,21
Penta E: 5,7
Penta D: 11,11
D8S1179: 13,13
FGA: 23,26