

Wilms8-Zellen | 300416

Allgemeine Informationen

Description

Die Wilms8-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.1168 C>T, p.R390X) gekennzeichnet, die zu einem vollständigen Verlust der WT1-Funktion führt. WT1 ist von entscheidender Bedeutung für die normale Nierenentwicklung, und seine Inaktivierung ist ein gemeinsames Merkmal bestimmter aggressiver Subtypen von Wilms-Tumoren, insbesondere solcher, die eine mesenchymale Differenzierung aufweisen. Wilms8 ist daher ein wertvolles Modell für die Untersuchung der Auswirkungen des WT1-Verlusts auf die Tumorgenese, insbesondere im Zusammenhang mit Wilms-Tumoren, die mit einer ausgeprägten stromalen Komponente entstehen.

Zusätzlich zur WT1-Mutation weisen Wilms8-Zellen eine Mutation im CTNNB1-Gen (p.S45A) auf, das für β -Catenin kodiert, einen wichtigen Regulator des Wnt-Signalwegs. Die Mutation an Serin 45 unterbricht den normalen Phosphorylierungsprozess, der zum Abbau von β -Catenin führt, und bewirkt dessen Stabilisierung und Anreicherung im Zellkern. Dies führt zu einer konstitutiven Aktivierung der Wnt-Signalübertragung, die die Zellproliferation antreibt und zu den onkogenen Eigenschaften der Wilms8-Zelllinie beiträgt. Das Zusammenspiel von WT1-Verlust und abweichender Wnt-Signalisierung in Wilms8 macht diese Zelllinie zu einem wichtigen Modell für das Verständnis der molekularen Mechanismen, die diesen Signalwegen in der Biologie des Wilms-Tumors zugrunde liegen.

Wilms8-Zellen weisen einen mesenchymalen Phänotyp auf, der durch die Expression von Vimentin und das Fehlen von Epithelmarkern wie Cytokeratin gekennzeichnet ist. Dies stimmt mit der im ursprünglichen Tumor beobachteten stromalen Differenzierung überein. Die Zellen zeigen eine begrenzte Fähigkeit zur weiteren mesenchymalen Differenzierung, z. B. zur Bildung muskelähnlicher Zellen unter bestimmten Bedingungen. Proteomanalysen von Wilms8 haben die Aktivierung mehrerer Rezeptortyrosinkinasen (RTKs), einschließlich PDGFR β und AXL, gezeigt, die an Schlüsselprozessen wie Zellüberleben, Migration und Proliferation beteiligt sind. Die Aktivierung nachgeschalteter Signalwege, insbesondere der MAPK- und PI3K/AKT-Signalwege, trägt weiter zu den aggressiven Eigenschaften der Wilms8-Zellen bei.

Insgesamt ist die Wilms8-Zelllinie ein wichtiges Instrument zur Untersuchung der molekularen Grundlagen des Wilms-Tumors, der durch den Verlust von WT1 und eine abweichende Wnt-Signalübertragung ausgelöst wird. Ihre genetischen und phänotypischen Merkmale machen sie zu einer robusten Plattform für die Untersuchung der Interaktion zwischen diesen kritischen Signalwegen und für die Identifizierung potenzieller therapeutischer Ziele bei Wilms-Tumoren mit einer stromalen Komponente.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Wilms-Tumor

Applications In-vitro-Zellkulturmodell. Biochemische Studien

Merkmale

Age 8 Monate

Wilms8-Zellen | 300416

Gender Männlich

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Spindelförmig

Cell type Wilms-Zellen

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation Wilms8 (Cytion Katalognummer 300416)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SJ

Depositor B. Royer-Pokora

Biomolekulare Daten

Mutational profile WT1-Mutationsstatus: homozygot c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1-Mutationsstatus: heterozygot TCT>GCT, p.S45A

Handhabung

Culture Medium MSCGM-Kit (von Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Wilms8-Zellen | 300416

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.

Wilms8-Zellen | 300416

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: 8,9
D16S539: 13,13
D5S818: 12,13
D7S820: 8,10
TH01: 8,8
TPOX: 8,9
vWA: 18,18
D3S1358: 16,18
D21S11: 29,33.2
D18S51: 12,12
Penta E: 12,17
Penta D: 10,12
D8S1179: 8,13
FGA: 20,21

Wilms8-Zellen | 300416

HLA-Allele

A*: '02:01:01, '03:01:01

B*: '15:01:01, '37:01:01

C*: '04:01:01, '06:02:01

DRB1*: '08:01:01G, '11:01:01

DQA1*: '04:01:01, '05:05:01

DQB1*: '03:01:01, '04:02:01

DPB1*: '03:01:01, '06:01:01

E: '01:03:02