

## Клетки Wilms1 | 300411

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия Wilms1 е получена от първична проба от тумор на Уилмс, получена от пациент с големи двустранни тумори на бъбреците, което е показателно за тумор на Уилмс, педиатричен нефробластом. Тази клетъчна линия е носител на хомозиготна nonsense мутация в гена WT1 (с.149 C>A, р.S50X), която води до съкратен и нефункционален протеин WT1. Генът WT1, който е от решаващо значение за развитието и функцията на бъбреците, често мутира при туморите на Вилмс, особено при тези със стромален подтип, който проявява ектопична мезенхимна диференциация. Следователно клетките Wilms1 представляват уникален in vitro модел за изучаване на последиците от загубата на функцията на WT1 в туморната биология.

Клетъчната линия Wilms1 поддържа стабилен кариотип без значителни хромозомни аномалии, което позволява надеждно дългосрочно култивиране. Тези клетки проявяват мезенхимен фенотип, характеризира се с експресия на виментин и липса на епителни маркери като цитокератин, което съответства на техния стромален произход. Освен това клетъчната линия демонстрира ограничена, но забележима способност за мезенхимна диференциация, включително способност да се диференцира в мускулоподобни клетки при подходящи условия. Това прави Wilms1 безценен инструмент за изследване на молекулярните механизми на мезенхимната диференциация и нейната дерегулация в патогенезата на тумора на Wilms.

Wilms1 се използва и за изследване на състоянието на активиране на ключови сигнални пътища, участващи в туморната прогресия. Протеомичните анализи показват, че клетките Wilms1 показват фосфорилиране и активиране на няколко рецепторни тирозинови кинази, включително EGFR и PDGFR $\beta$ , както и на низходящите MAPK сигнални пътища. Тези констатации подчертават значението на клетъчната линия Wilms1 за проучване на целеви терапевтични подходи за тумора на Wilms чрез разчленяване на ролята на тези пътища в оцеляването, пролиферацията и диференциацията на раковите клетки.

**Organism** Човек

**Tissue** Бъбреци

**Applications** Модел на клетъчна култура in vitro. Биохимични изследвания

**Synonyms** Wilms1-2l

## Характеристики

**Age** 2 години

**Gender** Жена

**Ethnicity** Кавказки

**Клетки Wilms1 | 300411****Morphology** С форма на вретено**Cell type** Клетки на Вилмс**Growth properties** Придържачи се**Регулаторни данни****Citation** Wilms1 (каталожен номер 300411 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SC**Биомолекулярни данни****Receptors expressed** Рецепторни тирозинкинази EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL**Tumorigenic** Да, при голи мишки. Образува тумор с малки клетки, съответстващ на тумор на Вилмс (ксенографтите може да не представляват напълно тумори на Вилмс, вж. E. Kuncz Stroup 2017)**Viruses** HIV-1: отрицателен, HBV: отрицателен, HCV: отрицателен**Mutational profile** Статус на мутация на WT1: хомозиготна с. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, статус на мутация на CTNNB1: хетерозиготна TCT>TTT, p.S45F**Karyotype** 46, нормално**Работа с****Culture Medium** Комплект MSCGM (от Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 часа

**Клетки Wilms1 | 300411**

**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  клетки/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 1 до 2 пъти седмично

**Post-Thaw Recovery** Бърз

**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

**Клетки Wilms1 | 300411****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300\text{ x g}$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки Wilms1 | 300411

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

### HLA алели

**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