

## Клетки Wilms11 | 300420

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия Wilms11 е получена от първичен тумор на Wilms (нефробластом) при педиатричен пациент. За разлика от много други клетъчни линии на тумори на Wilms, Wilms11 се характеризира с наличието на див тип WT1, което означава, че не съдържа мутации в гена WT1, които обикновено се свързват с тумори на Wilms, проявяващи по-агресивни или стромални фенотипове. Въпреки това туморът Wilms11 показва значителна стромална диференциация с големи области на рабдомиоматозна диференциация, което показва мезенхимни елементи в тумора. Наличието на WT1 от див тип, съчетано със стромалната диференциация на тумора, предоставя уникален модел за разбиране на биологията на туморите на Wilms в случаите, когато липсват мутации на WT1.

Генетичните изследвания на Wilms11 показаха, че тази клетъчна линия е носител на специфична за тумора мутация в CTNNB1, гена, кодиращ  $\beta$ -Catenin, който играе ключова роля в сигналния път на Wnt. При Wilms11 тази мутация засяга серин 45, ключово място за фосфорилиране, което участва в разграждането на  $\beta$ -Catenin. Мутацията на CTNNB1 води до стабилизиране на  $\beta$ -Катенин, което води до неговото натрупване и конститутивно активиране на сигналния път на Wnt, който е двигател на клетъчната пролиферация и туморогенезата. Това прави Wilms11 важен модел за изучаване на взаимодействието между Wnt сигнализацията и развитието на тумора на Wilms, особено в случаите, когато WT1 остава непокътнат.

Протеомичните анализи на Wilms11 разкриха активирането на няколко рецепторни тирозинкинази (RTK), включително PDGFR $\beta$  и AXL, които участват в стимулирането на растежа и оцеляването на туморните клетки. Низходящите сигнални пътища, като MAPK и PI3K/AKT, също се активират в клетките Wilms11, допринасяйки за тяхното туморогенно поведение. Способността на клетките Wilms11 да се подлагат на мезенхимна диференциация, особено на рабдомиоматозна диференциация, подчертава потенциала им като модел за изучаване на мезенхимните компоненти на тумора на Wilms. Като цяло Wilms11 служи като ценен инструмент за изследване на молекулярните механизми, които стимулират туморогенезата на Wilms при липса на мутации на WT1, но в контекста на активиране на пътя на Wnt.

**Organism** Човек

**Tissue** Бъбреци

**Disease** Тумор на Вилмс

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

## Характеристики

**Age** 22 месеца

**Gender** Мъжки

**Ethnicity** Кавказки

## Клетки Wilms11 | 300420

**Morphology** С форма на вретено

**Cell type** Клетки на Вилмс

**Growth properties** Придържачи се

## Регулаторни данни

**Citation** Wilms11 (каталожен номер 300420 на Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SM

## Биомолекулярни данни

**Mutational profile** Статус на мутация на WT1: хомозиготен WT1 с.901с>Т, р.Р301х. LOH: . Статус на мутацията на CTNNB1: див тип

## Работа с

**Culture Medium** Комплект MSCGM (от Lonza)

**Dissociation Reagent** Accutase

**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.

**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 Wilms11 | 300420

**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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 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 Wilms11 | 300420

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  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.