

## Wilms8 sejtek | 300416

## Általános információk

## Description

A Wilms8 sejtvonal egy gyermekbeteg primer Wilms-tumorából származik, amely csíravonalbeli WT1-mutációval rendelkezik. Ezt a sejtvonalat a WT1 gén homozigóta nonszensz mutációja jellemzi (c.1168 C>T, p.R390X), ami a WT1 funkció teljes elvesztéséhez vezet. A WT1 döntő fontosságú a normális vesefejlődéshez, és inaktivációja a Wilms-tumor bizonyos agresszív altípusaiban gyakori, különösen azokban, amelyek mesenchymális differenciálódást mutatnak. A Wilms8 ezért értékes modell a WT1 elvesztésének a tumorigenezisre gyakorolt hatásának tanulmányozására, különösen a kifejezett stromális komponenssel kialakuló Wilms-tumrok összefüggésében.

A WT1 mutáción kívül a Wilms8 sejtek mutációt hordoznak a CTNNB1 génben (p.S45A), amely a  $\beta$ -katenint, a Wnt jelátviteli útvonal kulcsfontosságú szabályozóját kódolja. A 45-ös szerin mutáció megzavarja a  $\beta$ -Catenin degradációjához vezető normál foszforilációs folyamatot, ami stabilizálódását és felhalmozódását okozza a sejtmagban. Ez a Wnt-szignalizáció konstitutív aktiválódását eredményezi, ami a sejtproliferációt hajtja és hozzájárul a Wilms8 sejtvonal onkogén tulajdonságaihoz. A Wilms8-ban a WT1 elvesztése és az aberráns Wnt-szignalizáció közötti kölcsönhatás kulcsfontosságú modellt teszi a Wilms8-at a Wilms-tumor biológiájában ezen útvonalak mögött meghúzódó molekuláris mechanizmusok megértéséhez.

A Wilms8 sejtek mesenchymális fenotípust mutatnak, amelyet a vimentin expressziója és az epithelialis markerek, például a citokeratin hiánya jellemez. Ez megegyezik az eredeti tumorban megfigyelt stromális differenciálódással. A sejtek korlátozottan képesek további mesenchymális differenciálódásra, például izomszerű sejtek kialakítására bizonyos körülmények között. A Wilms8 proteomikai elemzései több receptor-tirozin-kináz (RTK), köztük a PDGFR $\beta$  és az AXL aktiválódását mutatták ki, amelyek olyan kulcsfontosságú folyamatokban vesznek részt, mint a sejtek túlélése, migrációja és proliferációja. A downstream jelátviteli útvonalak, különösen a MAPK és a PI3K/AKT útvonalak aktiválása tovább hozzájárul a Wilms8 sejtek agresszív jellemzőihez.

Összességében a Wilms8 sejtvonal alapvető eszközként szolgál a WT1 elvesztése és az aberráns Wnt-szignalizáció által vezérelt Wilms-tumor molekuláris alapjainak vizsgálatához. Genetikai és fenotípusos jellemzői robusztus platformmá teszik e kritikus útvonalak közötti kölcsönhatás tanulmányozására és a stromális komponensű Wilms-tumrok potenciális terápiás célpontjainak azonosítására.

**Organism** Emberi

**Tissue** Vese

**Disease** Wilms-tumor

**Applications** In vitro sejtkultúra modell. Biokémiai vizsgálatok

## Jellemzők

**Age** 8 hónap

**Gender** Férfi

**Wilms8 sejtek | 300416****Ethnicity** Kaukázusi**Morphology** Orsó alakú**Cell type** Wilms sejtek**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** Wilms8 (Cytion katalógusszám: 300416)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SJ**Biomolekuláris adatok****Mutational profile** WT1 mutációs státusz: homozigóta c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1 mutációs státusz: heterozigóta TCT>GCT, p.S45A**A kezelése****Culture Medium** MSCGM kit (a Lonzától)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

**Wilms8 sejtek | 300416****Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing Procedure**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## Wilms8 sejtek | 300416

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

### HLA allélok

**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