

## Sel Wilms3 | 300414

## Informasi umum

## Description

Garis sel Wilms3 dibuat dari tumor Wilms primer pada pasien anak, yang ditandai dengan mutasi WT1 somatik. Tidak seperti banyak garis sel tumor Wilms lainnya, Wilms3 memiliki mutasi pergeseran bingkai heterozigot pada gen WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), yang mengarah pada produksi protein WT1 yang terpotong. Hilangnya sebagian fungsi WT1 ini dikaitkan dengan perkembangan tumor yang menunjukkan fenotipe stroma atau mesenkim. Namun, mutasi WT1 pada Wilms3 tidak homozigot, yang menambah kompleksitas pada penelitiannya, karena mempertahankan beberapa fungsi WT1 yang dapat mempengaruhi biologi tumor secara berbeda dibandingkan dengan garis sel dengan hilangnya WT1 secara lengkap.

Wilms3 juga membawa mutasi pada gen CTNNB1, yang secara khusus memengaruhi treonin 41 (p.T41A), yang memainkan peran penting dalam jalur pensinyalan Wnt. Mutasi ini menstabilkan  $\beta$ -Catenin, mencegah degradasi dan menyebabkan aktivasi konstitutif jalur Wnt. Aktivasi pensinyalan Wnt yang terus-menerus mendorong proliferasi sel dan berkontribusi pada tumorigenesis di Wilms3, menjadikannya model kunci untuk mempelajari dampak mutasi CTNNB1 dalam konteks latar belakang WT1 yang berfungsi sebagian.

Secara fenotipik, sel Wilms3 menunjukkan morfologi seperti mesenkim, mengekspresikan vimentin dan tidak memiliki sitokeratin, konsisten dengan karakteristik stroma yang diamati pada tumor asli. Sel-sel ini menunjukkan potensi diferensiasi yang terbatas, dengan kemampuan untuk menjalani beberapa diferensiasi mesenkim dalam kondisi tertentu. Analisis proteomik Wilms3 telah mengungkapkan aktivasi beberapa reseptor tirosin kinase (RTK), termasuk PDGFR $\beta$  dan AXL, yang mendukung kelangsungan hidup dan proliferasi sel. Selain itu, jalur pensinyalan hilir seperti MAPK dan PI3K/AKT diaktifkan, memperkuat sifat ganas sel Wilms3.

Salah satu aspek unik dari Wilms3 adalah fungsi WT1 parsialnya, yang memberikan perspektif yang berbeda tentang bagaimana mutasi WT1 berkontribusi pada biologi tumor Wilms ketika mutasi tidak lengkap. Interaksi antara pensinyalan WT1 dan Wnt di Wilms3 menawarkan peluang berharga untuk mempelajari peran bernuansa yang dimainkan jalur ini dalam perkembangan tumor. Secara keseluruhan, Wilms3 berfungsi sebagai model penting untuk menyelidiki mekanisme molekuler yang mendasari tumor Wilms dengan adanya kehilangan WT1 parsial dan aktivasi jalur Wnt konstitutif.

**Organism** Manusia

**Tissue** Ginjal

**Disease** Tumor Wilms

**Applications** Model kultur sel in vitro. Studi biokimia

## Karakteristik

**Age** 11-12 bulan

**Gender** Laki-laki

**Ethnicity** Kaukasia

**Sel Wilms3 | 300414****Morphology** Berbentuk gelendong**Cell type** Sel Wilms**Growth properties** Patuh**Data Peraturan****Citation** Wilms3 (nomor katalog Cytion 300414)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SF**Data Biomolekuler****Mutational profile** Status mutasi WT1: homozigot c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, status mutasi CTNNB1: tipe liar**Penanganan****Culture Medium** Kit MSCGM (dari Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

## Sel Wilms3 | 300414

### Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah  $-150^{\circ}\text{C}$  untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu  $37^{\circ}\text{C}$  dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfer yang dilembapkan.

### Flask Coating

Tidak ada

### Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

### Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

## Sel Wilms3 | 300414

### Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

## Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

### Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

### Alel HLA

**A\***: '03:01:01  
**B\***: '35:01:01, '35:03:01  
**C\***: '04:01:01  
**DRB1\***: '04:03:01, '11:04:01  
**DQA1\***: '03:01:01, '05:05:01  
**DQB1\***: '03:01:01, '03:02:01  
**DPB1\***: '01:01:01, '04:01:01  
**E**: '01:03:02, '01:06:01