

## Sel Wilms8 | 300416

## Informasi umum

## Description

Garis sel Wilms8 berasal dari tumor Wilms primer pada pasien anak dengan mutasi gen WT1. Garis sel ini ditandai dengan mutasi omong kosong homozigot pada gen WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), yang menyebabkan hilangnya fungsi WT1 secara total. WT1 sangat penting untuk perkembangan ginjal normal, dan inaktivasi gen ini merupakan ciri umum pada subtipe tumor Wilms yang agresif, terutama yang menunjukkan diferensiasi mesenkim. Oleh karena itu, Wilms8 memberikan model yang berharga untuk mempelajari efek hilangnya WT1 pada tumorigenesis, terutama dalam konteks tumor Wilms yang muncul dengan komponen stroma yang jelas.

Selain mutasi WT1, sel Wilms8 memiliki mutasi pada gen CTNNB1 (p.S45A), yang mengkodekan  $\beta$ -Catenin, pengatur utama jalur pensinyalan Wnt. Mutasi pada serin 45 mengganggu proses fosforilasi normal yang mengarah pada degradasi  $\beta$ -Catenin, menyebabkan stabilisasi dan akumulasi di dalam nukleus. Hal ini menghasilkan aktivasi konstitutif pensinyalan Wnt, yang mendorong proliferasi sel dan berkontribusi pada sifat onkogenik garis sel Wilms8. Interaksi antara hilangnya WT1 dan pensinyalan Wnt yang menyimpang di Wilms8 menjadikannya model penting untuk memahami mekanisme molekuler yang mendasari jalur-jalur ini dalam biologi tumor Wilms.

Sel Wilms8 menunjukkan fenotipe mesenkim, yang ditandai dengan ekspresi vimentin dan tidak adanya penanda epitel seperti sitokeratin. Hal ini selaras dengan diferensiasi stroma yang diamati pada tumor asli. Sel-sel menunjukkan kemampuan terbatas untuk menjalani diferensiasi mesenkim lebih lanjut, seperti membentuk sel seperti otot dalam kondisi tertentu. Analisis proteomik Wilms8 telah mengungkapkan aktivasi beberapa reseptor tirosin kinase (RTK), termasuk PDGFR $\beta$  dan AXL, yang terlibat dalam proses utama seperti kelangsungan hidup sel, migrasi, dan proliferasi. Aktivasi jalur pensinyalan hilir, khususnya jalur MAPK dan PI3K/AKT, lebih lanjut berkontribusi pada karakteristik agresif sel Wilms8.

Secara keseluruhan, garis sel Wilms8 berfungsi sebagai alat penting untuk menyelidiki dasar molekuler tumor Wilms yang didorong oleh hilangnya WT1 dan pensinyalan Wnt yang menyimpang. Fitur genetik dan fenotipiknya menjadikannya platform yang kuat untuk mempelajari interaksi antara jalur kritis ini dan untuk mengidentifikasi target terapeutik potensial pada tumor Wilms dengan komponen stroma.

**Organism** Manusia

**Tissue** Ginjal

**Disease** Tumor Wilms

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

## Karakteristik

**Age** 8 bulan

**Gender** Laki-laki

**Ethnicity** Kaukasia

## Sel Wilms8 | 300416

**Morphology** Berbentuk gelendong

**Cell type** Sel Wilms

**Growth properties** Patuh

## Data Peraturan

**Citation** Wilms8 (nomor katalog Cytion 300416)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SJ

## Data Biomolekuler

**Mutational profile** Status mutasi WT1: homozigot c.1168C>T, p.390x, LOH; Status mutasi CTNNB1: heterozigot TCT>GCT, p.S45A

## 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 Wilms8 | 300416

### 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 Wilms8 | 300416

### 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\***: '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