

## Wilms6 ląstelės | 300415

## Bendra informacija

## Description

Wilms6 ląstelių linija buvo sukurta iš pirminio Wilms'o naviko, kuris buvo nustatytas vaikui, turinčiam WT1 mutaciją. Šiai ląstelių linijai būdinga homozigotinė nonsenso mutacija WT1 gene (c.1168 C>T, p.R390X), dėl kurios WT1 baltymas yra sutrumpėjęs ir nefunkcionalus. WT1 yra labai svarbus inkstų vystymosi reguliatorius, o jo praradimas yra glaudžiai susijęs su Vilms'o navikais, ypač tais atvejais, kai pasireiškia mezenchiminė diferenciacija. Wilms6 ląstelių linija yra svarbus modelis tiriant WT1 visiško praradimo navikinį poveikį, ypač navikų, kuriems būdingi ir epiteliniai, ir mezenchiminiai požymiai, kontekste.

Wilms6 ląstelės taip pat turi CTNNB1 geno mutaciją, kuri pažeidžia 45 seriną (p.S45F) - pagrindinę fosforilavimo vietą, reguliuojančią β-katenino skilimą. Ši mutacija lemia β-katenino stabilizavimą ir kaupimąsi branduolyje, todėl konstituciškai aktyvuojamas Wnt signalinis kelias. Neproporcingas Wnt signalų aktyvavimas yra žinomas ląstelių proliferacijos ir navikinės genozės veiksnys Vilms'o navikuose, todėl Wilms6 yra vertingas įrankis tiriant Wnt kelio disreguliacijos vaidmenį navikuose su WT1 mutacijomis.

Fenotipiškai Wilms6 ląstelės pasižymi mezenchimine morfologija, jose stipriai išreikštas vimentinas ir nėra epitelinių žymenų, tokių kaip citokeratinas, o tai atspindi pirminio naviko stromalinį pobūdį. Nustatyta, kad šios ląstelės turi ribotą, bet pastebimą diferenciacijos potencialą, įskaitant gebėjimą tam tikromis sąlygomis diferencijuotis į raumeningas ląsteles, o tai atspindi kai kurių Vilms'o navikų mezenchiminę diferenciaciją. Atlikus Vilms'o vėžio6 proteominius tyrimus nustatyta, kad aktyvuotos kelios receptorių tirozino kinazės (RTK), įskaitant PDGFRβ ir AXL, kurios skatina ląstelių išgyvenamumą, proliferaciją ir migraciją. Tolesnis tokių signalinių kelių, kaip MAPK ir PI3K/AKT, aktyvinimas dar labiau pabrėžia agresyvų šios ląstelių linijos pobūdį.

Apskritai, Wilms6 ląstelių linija yra labai svarbus modelis tiriant molekulinis mechanizmus, lemiančius Wilms'o naviko vystymąsi, ypač tais atvejais, kai visiškai prarandamas WT1 ir aktyvuojamas Wnt signalas. Dėl jos genetinių ir fenotipinių savybių ji tampa puikia platforma WT1 trūkumo ir pakitusių signalinių kelių sąveikai tirti, leidžiančia įžvelgti galimus šio agresyvaus tipo naviko gydymo taikinius.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Inkstai

**Disease** Vilms'o navikas

**Applications** In vitro ląstelių kultūros modelis. Biocheminiai tyrimai

## Charakteristikos

**Age** 15 mėnesių

**Gender** Vyras

**Ethnicity** Kaukazičiai

**Morphology** Verpstės formos

**Wilms6 ląstelės | 300415****Cell type** Vilms0 ląstelės**Growth properties** Priglundės**Reguliavimo duomenys****Citation** Wilms6 (Cytion katalogo numeris 300415)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SI**Biomolekuliniai duomenys****Mutational profile** WT1 mutacijos būklė: homozigotinė c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutacijos būklė: homozigotinė del TCT, p.DS45**Tvarkymas****Culture Medium** MSCGM rinkinys (iš "Lonza")**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## Wilms6 ląstelės | 300415

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## Wilms6 ląstelės | 300415

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**A\***: '02:05:01, '29:01:01

**B\***: '07:05:01, '13:02:01

**C\***: '06:02:01, '15:05:02

**DRB1\***: '07:01:01, '10:01:01

**DQA1\***: '01:05:01, '02:01:01

**DQB1\***: '02:02:01, '05:01:01

**DPB1\***: '04:02:01, '17:01:01

**E**: '01:01:01