

Celice Wilms6 | 300415**Splošne informacije****Description**

Celična linija Wilms6 je bila pridobljena iz primarnega Wilmsovega tumorja pri pediatričnem bolniku z zarodno mutacijo WT1. To celično linijo opredeljuje homozigotna mutacija nonsense v genu WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), ki povzroča skrajšano in nefunkcionalno beljakovino WT1. WT1 je ključni regulator razvoja ledvic, njegova izguba pa je močno povezana z Wilmsovim tumorjem, zlasti v primerih z mezenhimsko diferenciacijo. Celična linija Wilms6 je pomemben model za preučevanje tumorigenih učinkov popolne izgube WT1, zlasti pri tumorjih, ki imajo tako epitelijske kot mezenhimske značilnosti.

Celice Wilms6 imajo tudi mutacijo v genu CTNNB1, ki prizadene predvsem serin 45 (p.S45F), ključno mesto za fosforilacijo, ki uravnava razgradnjo β -katenina. Ta mutacija povzroči stabilizacijo in jedrno kopičenje β -katenina, kar povzroči konstitutivno aktivacijo signalne poti Wnt. Nenormalna aktivacija signalizacije Wnt je znano gonilo celične proliferacije in tumorigeneze v tumorjih Wilms, zato je Wilms6 dragoceno orodje za raziskovanje vloge disregulacije poti Wnt v tumorjih z mutacijami WT1.

Fenotipsko imajo celice Wilms6 mezenhimsko morfologijo z močnim izražanjem vimentina in odsotnostjo epitelijskih označevalcev, kot je citokeratin, kar odraža stromalno naravo prvotnega tumorja. Pokazalo se je, da imajo te celice omejen, vendar opazen diferenciacijski potencial, vključno s sposobnostjo diferenciacije v mišične celice pod posebnimi pogoji, kar odraža mezenhimsko diferenciacijo, opaženo pri nekaterih tumorjih Wilms. Proteomske študije Wilms6 so pokazale aktivacijo številnih receptorskih tirozinskih kinaz (RTK), vključno s PDGFR β in AXL, ki sodelujejo pri spodbujanju preživetja, proliferacije in migracije celic. Aktivacija signalnih poti, kot sta MAPK in PI3K/AKT, še dodatno poudarja agresivno naravo te celične linije.

Na splošno je celična linija Wilms6 ključni model za raziskovanje molekularnih mehanizmov, na katerih temelji razvoj tumorjev Wilms, zlasti v primerih popolne izgube WT1 v kombinaciji z aktivacijo signalizacije Wnt. Zaradi svojih genetskih in fenotipskih značilnosti je odlična platforma za preučevanje medsebojnega vpliva med pomanjkanjem WT1 in aberantnimi signalnimi potmi, kar omogoča vpogled v možne terapevtske cilje za to agresivno vrsto tumorja.

Organism Človek**Tissue** Ledvice**Disease** Wilmsov tumor**Applications** In vitro model celične kulture. Biokemične študije**Značilnosti****Age** 15 mesecev**Gender** Moški**Ethnicity** Kavkaški

Celice Wilms6 | 300415**Morphology** Vretenasta oblika**Cell type** Wilmsove celice**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** Wilms6 (katalogska številka Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Biomolekularni podatki****Mutational profile** Status mutacije WT1: homozigotna c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, status mutacije CTNNB1: homozigotna del TCT, p.DS45**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** Komplet MSCGM (Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice Wilms6 | 300415

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice Wilms6 | 300415

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli HLA

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