

**Celice Wilms8 | 300416****Splošne informacije****Description**

Celična linija Wilms8 je bila pridobljena iz primarnega Wilmsovega tumorja pri pediatričnem bolniku z zarodno mutacijo WT1. Za to celično linijo je značilna homozigotna nesmiselna mutacija v genu WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), ki povzroči popolno izgubo funkcije WT1. WT1 je ključnega pomena za normalen razvoj ledvic, njegova inaktivacija pa je skupna značilnost nekaterih agresivnih podtipov Wilmsovega tumorja, zlasti tistih, ki kažejo mezenhimsko diferenciacijo. Wilms8 je zato dragocen model za preučevanje učinkov izgube WT1 na tumorogenezo, zlasti v okviru Wilmsovih tumorjev, ki nastanejo z izrazito stromalno komponento.

Poleg mutacije WT1 imajo celice Wilms8 tudi mutacijo v genu CTNNB1 (p.S45A), ki kodira  $\beta$ -katenin, ključni regulator signalne poti Wnt. Mutacija na serinu 45 prekine normalen proces fosforilacije, ki vodi do razgradnje  $\beta$ -katenina, kar povzroči njegovo stabilizacijo in kopičenje v jedru. To povzroči konstitutivno aktivacijo signalizacije Wnt, ki spodbuja proliferacijo celic in prispeva k onkogenim lastnostim celične linije Wilms8. Zaradi medsebojnega vpliva med izgubo WT1 in aberantno signalizacijo Wnt je linija Wilms8 ključni model za razumevanje molekularnih mehanizmov, na katerih temeljijo te poti v biologiji tumorjev Wilms.

Celice Wilms8 imajo mezenhimski fenotip, za katerega je značilno izražanje vimentina in odsotnost epitelijskih označevalcev, kot je citokeratin. To se ujema s stromalno diferenciacijo, opaženo v prvotnem tumorju. Celice kažejo omejeno sposobnost nadaljnje mezenhimske diferenciacije, na primer oblikovanje mišicam podobnih celic pod posebnimi pogoji. Proteomske analize Wilms8 so razkrile aktivacijo številnih receptorskih tirozin kinaz (RTK), vključno s PDGFR $\beta$  in AXL, ki sodelujejo pri ključnih procesih, kot so preživetje, migracija in proliferacija celic. K agresivnim značilnostim celic Wilms8 prispeva tudi aktivacija signalnih poti, zlasti poti MAPK in PI3K/AKT.

Na splošno je celična linija Wilms8 pomembno orodje za raziskovanje molekularne osnove tumorja Wilms, ki ga povzročata izguba WT1 in aberantna signalizacija Wnt. Zaradi svojih genetskih in fenotipskih značilnosti je zanesljiva platforma za preučevanje interakcije med temi kritičnimi potmi in za ugotavljanje morebitnih terapevtskih ciljev pri tumorjih Wilms s stromalno komponento.

<b>Organism</b>	Človek
<b>Tissue</b>	Ledvice
<b>Disease</b>	Wilmsov tumor
<b>Applications</b>	In vitro model celične kulture. Biokemične študije

**Značilnosti**

<b>Age</b>	8 mesecev
<b>Gender</b>	Moški
<b>Ethnicity</b>	Kavkaški

**Celice Wilms8 | 300416****Morphology** Vretenasta oblika**Cell type** Wilmsove celice**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** Wilms8 (katalogska številka Cytion 300416)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SJ**Biomolekularni podatki****Mutational profile** Status mutacije WT1: homozigotna c.1168C>T, p.390x, LOH: , status mutacije CTNNB1: heterozigotna TCT>GCT, p.S45A**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 Wilms8 | 300416

### 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 %  $\text{CO}_2$ , 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 Wilms8 | 300416

### 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\***: '02:01:01, '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