

## Wilms1 Hücreleri | 300411

### Genel bilgi

#### Description

Wilms1 hücre hattı, pediatrik bir nefroblastom olan Wilms tümörünün göstergesi olan büyük bilateral böbrek tümörleri ile başvuran bir hastadan elde edilen birincil Wilms tümör örneğinden türetilmiştir. Bu hücre hattı, WT1 geninde (c.149 C>A, p.S50X) kesilmiş ve işlevsel olmayan bir WT1 proteini ile sonuçlanan homozigot saçma bir mutasyon barındırmaktadır. Böbrek gelişimi ve işlevi için kritik olan WT1 geni, Wilms tümöründe, özellikle de ektopik mezenkimal farklılaşma sergileyen stromal alt tipe sahip olanlarda sıklıkla mutasyona uğramaktadır. Bu nedenle Wilms1 hücreleri, tümör biyolojisinde WT1 işlev kaybının sonuçlarını incelemek için benzersiz bir in vitro modeli temsil etmektedir.

Wilms1 hücre hattı, önemli kromozomal anormallikler olmaksızın stabil bir karyotipi koruyarak güvenilir uzun süreli kültüre olanak sağlar. Bu hücreler, stromal kökenleriyle tutarlı olarak vimentin ekspresyonu ve sitokeratin gibi epitelyal belirteçlerin yokluğu ile karakterize mezenkimal bir fenotip sergilemektedir. Ek olarak, hücre hattı, uygun koşullar altında kas benzeri hücrelere farklılaşma yeteneği de dahil olmak üzere sınırlı ancak dikkate değer mezenkimal farklılaşma kapasitesi gösterir. Bu da Wilms1'i mezenkimal farklılaşmanın moleküler mekanizmalarını ve Wilms tümör patogeneziindeki düzensizliğini araştırmak için paha biçilmez bir araç haline getirmektedir.

Wilms1 ayrıca tümör ilerlemesinde rol oynayan kilit sinyal yollarının aktivasyon durumunu incelemek için de kullanılmıştır. Proteomik analizler, Wilms1 hücrelerinin EGFR ve PDGFRβ dahil olmak üzere çeşitli reseptör tirozin kinazların yanı sıra aşağı akış MAPK sinyal yollarının fosforilasyonunu ve aktivasyonunu sergilediğini göstermiştir. Bu bulgular, Wilms1 hücre hattının, bu yolların kanser hücreleri sağ kalımı, proliferasyonu ve farklılaşmasındaki rolünü inceleyerek Wilms tümörü için hedefe yönelik terapötik yaklaşımların araştırılmasındaki önemini vurgulamaktadır.

**Organism** İnsan

**Tissue** Böbrek

**Applications** In vitro hücre kültürü modeli. Biyokimyasal çalışmalar

**Synonyms** Wilms1-2l

### Özellikler

**Age** 2 yıl

**Gender** Kadın

**Ethnicity** Kafkas

**Morphology** İğ şeklinde

**Cell type** Wilms hücreleri

**Wilms1 Hücreleri | 300411**

**Growth properties** Yapışık

**Düzenleyici Veriler**

**Citation** Wilms1 (Cytion katalog numarası 300411)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SC

**Biyomoleküler Veriler**

**Receptors expressed** Reseptör tirozin kinazlar EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

**Tumorigenic** Evet, çıplak farelerde. Wilms tümörü ile uyumlu küçük hücreli tümör oluşturur (ksenograftlar Wilm tümörlerini tam olarak temsil etmeyebilir, bkz. E. Kuncz Stroup 2017)

**Viruses** HIV-1: negatif, HBV: negatif, HCV: negatif

**Mutational profile** WT1 mutasyon durumu: homozigot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutasyon durumu: heterozigot TCT>TT, p.S45F

**Karyotype** 46, normal

**Elleçleme**

**Culture Medium** MSCGM kiti (Lonza'dan)

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 24 saat

**Wilms1 Hücreleri | 300411**

**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  hücre/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** haftada 1 ila 2 kez

**Post-Thaw Recovery** Hızlı

**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

**Wilms1 Hücreleri | 300411****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

**Flask Coating**

Yok

**Freezing  
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping  
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## Wilms1 Hücreleri | 300411

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

### HLA alelleri

**A\***: '03:01:01, '24:02:01  
**B\***: '35:03:01, '38:01:01  
**C\***: '12:03:01  
**DRB1\***: '07:01:01, '14:54:01  
**DQA1\***: '01:04:01, '02:01:01  
**DQB1\***: '02:02:01, '05:03:01  
**DPB1\***: '02:01:02G, '04:02:01G  
**E**: '01:03:01, '01:03:02