

## Wilms8 Hücreleri | 300416

### Genel bilgi

#### Description

Wilms8 hücre hattı, germline WT1 mutasyonu olan bir pediatrik hastadaki primer Wilms tümöründen türetilmiştir. Bu hücre hattı, WT1 geninde homozigot saçma mutasyon (c.1168 C>T, p.R390X) ile karakterize edilir ve WT1 fonksiyonunun tamamen kaybına yol açar. WT1 normal böbrek gelişimi için çok önemlidir ve inaktivasyonu Wilms tümörünün bazı agresif alt tiplerinde, özellikle de mezenkimal farklılaşma gösterenlerde ortak bir özelliktir. Bu nedenle Wilms8, özellikle belirgin bir stromal bileşenle ortaya çıkan Wilms tümörleri bağlamında, WT1 kaybının tümörigenez üzerindeki etkilerini incelemek için değerli bir model sağlar.

WT1 mutasyonuna ek olarak, Wilms8 hücreleri, Wnt sinyal yolunun önemli bir düzenleyicisi olan  $\beta$ -Katenin'i kodlayan CTNNB1 geninde (p.S45A) bir mutasyon barındırır. Serin 45'teki mutasyon,  $\beta$ -Catenin degradasyonuna yol açan normal fosforilasyon sürecini bozarak stabilizasyonuna ve çekirdekte birikmesine neden olur. Bu, hücre çoğalmasını sağlayan ve Wilms8 hücre hattının onkojenik özelliklerine katkıda bulunan Wnt sinyalinin yapısal aktivasyonu ile sonuçlanır. Wilms8'de WT1 kaybı ve anormal Wnt sinyali arasındaki etkileşim, Wilms tümör biyolojisinde bu yolların altında yatan moleküler mekanizmaları anlamak için çok önemli bir model haline getirmektedir.

Wilms8 hücreleri, vimentin ekspresyonu ve sitokeratin gibi epitelyal belirteçlerin yokluğu ile karakterize mezenkimal bir fenotip sergilemektedir. Bu, orijinal tümörde gözlenen stromal farklılaşma ile uyumludur. Hücreler, belirli koşullar altında kas benzeri hücreler oluşturmak gibi daha fazla mezenkimal farklılaşma geçirme konusunda sınırlı bir yetenek gösterir. Wilms8'in proteomik analizleri, PDGFR $\beta$  ve AXL dahil olmak üzere, hücre sağkalımı, göçü ve çoğalması gibi kilit süreçlerde rol oynayan çoklu reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) aktivasyonunu ortaya çıkarmıştır. Özellikle MAPK ve PI3K/AKT yolları olmak üzere aşağı akış sinyal yollarının aktivasyonu, Wilms8 hücrelerinin agresif özelliklerine daha fazla katkıda bulunur.

Genel olarak, Wilms8 hücre hattı, WT1 kaybı ve anormal Wnt sinyali tarafından yönlendirilen Wilms tümörünün moleküler temelini araştırmak için önemli bir araç görevi görmektedir. Genetik ve fenotipik özellikleri onu, bu kritik yollar arasındaki etkileşimi incelemek ve stromal bileşenli Wilms tümörlerinde potansiyel terapötik hedefleri belirlemek için sağlam bir platform haline getirmektedir.

**Organism** İnsan

**Tissue** Böbrek

**Disease** Wilms tümörü

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

### Özellikler

**Age** 8 ay

**Gender** Erkek

**Ethnicity** Kafkas

**Wilms8 Hücreleri | 300416****Morphology** İğ şeklinde**Cell type** Wilms hücreleri**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** Wilms8 (Cytion katalog numarası 300416)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SJ**Biyomoleküler Veriler****Mutational profile** WT1 mutasyon durumu: homozigot c.1168C>T, p.390x, LOH: , CTNNB1 mutasyon durumu: heterozigot TCT>GCT, p.S45A**Elleçleme****Culture Medium** MSCGM kiti (Lonza'dan)**Dissociation Reagent** Accutase**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.**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.

**Wilms8 Hücreleri | 300416****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 süspansiyon 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.

## Wilms8 Hücreleri | 300416

### 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\***: '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