

## Клітини Wilms6 | 300415

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія Wilms6 була отримана з первинної пухлини Вільмса у педіатричного пацієнта з мутацією зародкової лінії WT1. Ця клітинна лінія визначається гомозиготною нонсенс-мутацією в гені WT1 (с.1168 C>T, р.R390X), в результаті якої утворюється усичений і нефункціональний білок WT1. WT1 є важливим регулятором розвитку нирок, і його втрата тісно пов'язана з пухлиною Вільмса, особливо у випадках з мезенхімальним диференціюванням. Клітинна лінія Wilms6 є важливою моделлю для вивчення пухлинних ефектів повної втрати WT1, особливо в контексті пухлин, які мають як епітеліальні, так і мезенхімальні характеристики.

Клітини Wilms6 також несуть мутацію в гені CTNNB1, яка специфічно впливає на серин 45 (р.S45F), ключовий сайт фосфорилування, що регулює деградацію β-катеніну. Ця мутація призводить до стабілізації та ядерного накопичення β-катеніну, що спричиняє конститутивну активацію сигнального шляху Wnt. Аберантна активація сигнального шляху Wnt є відомим драйвером клітинної проліферації та пухлиноутворення в пухлинах Вільмса, що робить Wilms6 цінним інструментом для дослідження ролі дисрегуляції сигнального шляху Wnt в пухлинах з мутаціями WT1.

Фенотипічно клітини Wilms6 мають мезенхімальну морфологію з високою експресією віментину і відсутністю епітеліальних маркерів, таких як цитокератин, що відображає стромальну природу вихідної пухлини. Показано, що ці клітини мають обмежений, але помітний потенціал диференціювання, включаючи здатність диференціюватися в м'язові клітини за певних умов, що відображає мезенхімальну диференціацію, яка спостерігається в деяких пухлинах Вільмса. Протеомні дослідження пухлини Вільмса виявили активацію декількох рецепторних тирозинкіназ (RTK), включаючи PDGFRβ і AXL, які беруть участь у сприянні виживанню, проліферації та міграції клітин. Подальша активація сигнальних шляхів, таких як MAPK і PI3K/AKT, ще більше підкреслює агресивну природу цієї клітинної лінії.

В цілому, клітинна лінія Wilms6 слугує важливою моделлю для вивчення молекулярних механізмів, що лежать в основі розвитку пухлини Вільмса, особливо у випадках повної втрати WT1 у поєднанні з активацією сигнального шляху Wnt. Її генетичні та фенотипічні характеристики роблять її чудовою платформою для вивчення взаємодії між дефіцитом WT1 та аберантними сигнальними шляхами, забезпечуючи розуміння потенційних терапевтичних мішеней для цього агресивного типу пухлин.

**Organism** Людина

**Tissue** Нирка

**Disease** Пухлина Вільмса

**Applications** Модель культури клітин in vitro. Біохімічні дослідження

## Характеристики

**Age** 15 місяців

**Gender** Чоловік

## Клітини Wilms6 | 300415

**Ethnicity** Кавказець**Morphology** Веретеноподібна форма**Cell type** Клітини Вільмса**Growth properties** Адепт

## Нормативні дані

**Citation** Wilms6 (номер за каталогом Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SI

## Біомолекулярні дані

**Mutational profile** Статус мутації WT1: гомозиготний c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, статус мутації CTNNB1: гомозиготний del TCT, p.DS45

## Обробка

**Culture Medium** Комплект MSCGM (від Lonza)**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

## Клітини Wilms6 | 300415

### Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Hi

## Клітини Wilms6 | 300415

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

### HLA алелі

**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