

## Wilms10M-celler | 300418

## Generel information

## Description

Wilms10M-cellelinjen blev etableret fra en metastatisk lungeknude fra en patient med Wilms-tumor (nefroblastom). Ligesom sin primære tumor-modstykke, Wilms10T, er Wilms10M-cellelinjen karakteriseret ved en homozygot deletion af WT1-genet, hvilket resulterer i et fuldstændigt fravær af WT1-protein. WT1 er afgørende for normal nyreudvikling, og dens deletion er forbundet med mere aggressiv tumoradfærd, især i metastatiske omgivelser. Derudover udviser Wilms10M-celler tab af heterozygoti (LOH) i 11p15-kromosomregionen, som inkluderer IGF2-genet, hvilket yderligere bidrager til disse cellers ondartede egenskaber.

Wilms10M-celler opretholder en stabil karyotype uden større kromosomale omlejninger bortset fra den specifikke deletion af WT1-regionen. Denne cellelinje, der stammer fra metastatisk væv, er særlig værdifuld til at studere de molekylære mekanismer, der driver metastase i Wilms-tumor. Cellerne udviser mesenkymale egenskaber og udtrykker markører som vimentin, mens de mangler epitelmarkører som cytokeratin, hvilket tyder på, at de stammer fra tumorens stromale komponent.

Forskningen i Wilms10M har fokuseret på de signalveje, der er aktive i disse metastatiske celler. Proteomiske analyser har vist aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er), herunder IGF1R, PDGFR $\beta$  og AXL, som er involveret i at fremme celleoverlevelse, spredning og metastatisk potentiale. De efterfølgende MAPK- og PI3K/AKT-signalveje aktiveres også og spiller en vigtig rolle i opretholdelsen af Wilms10M-cellernes invasive og metastatiske fænotype. På grund af sin metastatiske oprindelse er Wilms10M en vigtig model til at forstå de molekylære begivenheder, der ligger til grund for Wilms-tumormetastase, og til at udvikle målrettede terapeutiske strategier mod metastatisk sygdom.

**Organism** Menneske

**Tissue** Nyre

**Disease** Wilms-tumor

**Applications** In vitro-cellekulturmodel. Biokemiske undersøgelser

**Synonyms** Wilms10

## Karakteristika

**Age** 2 år

**Gender** Kvinde

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Spindelformet

## Wilms10M-celler | 300418

<b>Cell type</b>	Wilms-celler
------------------	--------------

<b>Growth properties</b>	Vedhæftende
--------------------------	-------------

## Regulatoriske data

<b>Citation</b>	Wilms10M (Cytion katalognummer 300418)
-----------------	--

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A5SL
-----------------------------	-----------

## Biomolekylære data

<b>Mutational profile</b>	WT1-mutationsstatus: homozygot del WT1 inden for del11p13. LOH: ingen i 11p13, men UPD i 11p15. CTNNB1-mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45, UPD 3p
---------------------------	---

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	MSCGM-kit (fra Lonza)
-----------------------	-----------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
---------------------	--

<b>Freeze medium</b>	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.
----------------------	--

## Wilms10M-celler | 300418

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## Wilms10M-celler | 300418

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.