

## Wilms10T-solut | 300417

## Yleisiä tietoja

## Description

Wilms10T-solulinja on peräisin Wilmsin kasvaimen primaarinäytteestä, joka on saatu potilaalta, jolla on Wilmsin kasvain, pediatriinen nefroblastooma. Tälle solulinjalle on ominaista WT1-geenin homotsygoottinen deleetio, joka johtaa WT1:n toiminnan täydelliseen katoamiseen. WT1 on kriittinen geeni, joka osallistuu munuaisten kehitykseen ja munuaisten normaalin erilaistumisen ylläpitämiseen. Toisin kuin monissa muissa Wilmsin kasvainsolulinjoissa, Wilms10T:stä puuttuu WT1-proteiinin ilmentyminen, mikä kuvastaa tässä kasvaimen alatyypissä esiintyviä vakavia geneettisiä muutoksia. Lisäksi Wilms10T-solulinjassa esiintyy heterotsygotian menetystä (LOH) kromosomialueella 11p15, joka sisältää tärkeitä genejä, kuten IGF2, mikä osaltaan lisää sen kasvainogeenisia ominaisuuksia.

Wilms10T-soluilla on vakaa normaali karyotyyppi, jossa ei ole merkittäviä kromosomien uudelleenjärjestelyjä lukuun ottamatta WT1-alueen spesifistä deleetioitumista. Tätä solulinjaa on käytetty laajasti tutkimaan täydellisen WT1:n menetyksen vaikutuksia kasvaimen biologiaan, mukaan lukien sen vaikutus solujen proliferaatioon, erilaistumiseen ja vasteeseen erilaisille signaalireiteille. Solut säilyttävät mesenkymaaliset piirteet ja ilmentävät merkkiaineita, kuten vimentiniä, mutta niistä puuttuvat epiteelimerkkiaineet, kuten sytokeratiini, mikä viittaa niiden stroomaperäisyyteen.

Merkittävässä tutkimuksessa on keskitytty Wilms10T-solujen aktiivisiin signaalireitteihin. Proteomitutkimukset ovat osoittaneet, että näissä soluissa aktivoituu useita reseptorityrosiinikinaaseja (RTK), kuten IGF1R, PDGFR $\beta$  ja AXL, joiden tiedetään ohjaavan kasvainten syntyä. Lisäksi Wilms10T-soluissa aktivoituvat myöhemmät signaalireitit, kuten MAPK- ja PI3K/AKT-reitit, jotka vaikuttavat niiden aggressiiviseen kasvainfenotyyppiin. Wilms10T:n kattava karakterisointi tekee siitä arvokkaan mallin, jonka avulla voidaan tutkia Wilmsin kasvaimen molekulaarisia taustatekijöitä, kun WT1 menetetään kokonaan, sekä tutkia mahdollisia terapeutisia kohteita tässä aggressiivisessä kasvaimen alatyypissä.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Munuaiset

**Disease** Wilmsin kasvain

**Applications** In vitro -soluviljelymalli ja biokemialliset tutkimukset

**Synonyms** Wilms10

## Ominaisuudet

**Age** 2 vuotta

**Gender** Nainen

**Ethnicity** Kaukasialainen

## Wilms10T-solut | 300417

**Morphology** Karanmuotoinen

**Cell type** Wilmsin solut

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** Wilms10T (Cytionin luettelonumero 300417)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SL

## Biomolekyylitiedot

**Mutational profile** WT1-mutaatiotilanne: homotsygoottinen del WT1 del11p13:ssa. LOH: ei 11p13:ssa, mutta UPD 11p15:ssä. CTNNB1-mutaatiotilanne: homotsygoottinen del TCT, p.DS45, UPD 3p

## Käsittely

**Culture Medium** MSCGM-pakkaus (Lonza)

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 46 tuntia

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

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

## Wilms10T-solut | 300417

**Fluid renewal** 1-2 kertaa viikossa

**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

Ei mitään

## Wilms10T-solut | 300417

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**A\***: '01:01:01, '11:01:01  
**B\***: '18:01:01, '27:05:02  
**C\***: '01:02:01, '12:03:01  
**DRB1\***: '01:01:01, '11:04:01  
**DQA1\***: '01:01:01, '05:05:01  
**DQB1\***: '03:01:01, '05:01:01  
**DPB1\***: '04:01:01G, '04:02:01G  
**E**: '01:01:01