

## Wilms10M sejtek | 300418

## Általános információk

## Description

A Wilms10M sejtvonalat egy Wilms-tumoros (nefroblastómás) beteg metasztatikus tüdőcsomójából hozták létre. A Wilms10M sejtvonatra, akárcsak primer tumoros megfelelőjére, a Wilms10T-re, a WT1 gén homozigóta deléciója jellemző, ami a WT1 fehérje teljes hiányát eredményezi. A WT1 esszenciális a normális vesefejlődéshez, és deléciója agresszívabb tumoros viselkedéssel jár, különösen metasztatikus környezetben. Ezenkívül a Wilms10M sejtek heterozigotizációsvesztést (LOH) mutatnak a 11p15 kromoszómarégióban, amely az IGF2 gént tartalmazza, ami tovább hozzájárul e sejtek rosszindulatú tulajdonságaihoz.

A Wilms10M sejtek stabil kariotípust tartanak fenn, amelyben a WT1 régió specifikus delécióján kívül nincsenek jelentősebb kromoszóma-átrendeződések. Ez a metasztatikus szövetből származó sejtvonat különösen értékes a Wilms-tumorban az áttétképzést irányító molekuláris mechanizmusok tanulmányozásához. A sejtek mesenchymális jellegzetességeket mutatnak, olyan markereket expresszálnak, mint a vimentin, miközben hiányoznak belőlük az olyan epithelialis markerek, mint a citokeratin, ami arra utal, hogy a tumor stromális komponenséből származnak.

A Wilms10M kutatásai az ezekben az áttétes sejtekben aktív jelátviteli útvonalakra összpontosítottak. A proteomikai elemzések számos receptor-tirozin-kináz (RTK) aktiválódását mutatták ki, köztük az IGF1R, PDGFR $\beta$  és AXL aktiválódását, amelyek részt vesznek a sejtek túlélésének, proliferációjának és metasztatikus potenciáljának elősegítésében. A downstream MAPK és PI3K/AKT jelátviteli útvonalak is aktiválódnak, amelyek kulcsszerepet játszanak a Wilms10M sejtek invazív és metasztatikus fenotípusának fenntartásában. Metasztatikus eredetét tekintve a Wilms10M alapvető modell a Wilms-tumor metasztázisának hátterében álló molekuláris események megértéséhez és az áttétes betegség elleni célzott terápiás stratégiák kifejlesztéséhez.

**Organism** Emberi

**Tissue** Vese

**Disease** Wilms-tumor

**Applications** In vitro sejt kultúra modell. Biokémiai vizsgálatok

**Synonyms** Wilms10

## Jellemzők

**Age** 2 év

**Gender** Női

**Ethnicity** Kaukázusi

**Morphology** Orsó alakú

## Wilms10M sejtek | 300418

**Cell type** Wilms sejtek**Growth properties** Adherent

## Szabályozási adatok

**Citation** Wilms10M (Cytion katalógusszám: 300418)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SL

## Biomolekuláris adatok

**Mutational profile** WT1 mutációs státusz: homozigóta del WT1 a del11p13-on belül. LOH: nincs a 11p13-ban, de UPD a 11p15-ben. CTNNB1 mutációs státusz: homozigóta del TCT, p.DS45, UPD 3p

## A kezelése

**Culture Medium** MSCGM kit (a Lonzától)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**Wilms10M sejtek | 300418****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## Wilms10M sejtek | 300418

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.