

## Wilms10M ląstelės | 300418

## Bendra informacija

## Description

Wilms10M ląstelių linija buvo sukurta iš paciento, sergančio Wilms'o naviku (nefroblastoma), metastazavusio plaučių mazgeliu. Kaip ir pirminio naviko Wilms10T, Wilms10M ląstelių linija pasižymi homozigotine WT1 geno delecija, dėl kurios visiškai nėra WT1 baltymo. WT1 yra būtinas normaliam inkstų vystymuisi, o jo ištrynimasis susijęs su agresyvesniu naviko elgesiu, ypač metastazių atveju. Be to, Wilms10M ląstelės pasižymi heterozigotiškumo praradimu (LOH) 11p15 chromosomos srityje, kurioje yra IGF2 genas, o tai dar labiau prisideda prie šių ląstelių piktybinių savybių.

Wilms10M ląstelės išlaiko stabilų kariotipą be didesnių chromosomų pertvarkymų, išskyrus specifinį WT1 srities išbraukimą. Ši ląstelių linija, gauta iš metastazavusio audinio, yra ypač vertinga tiriant molekulinis mechanizmus, lemiančius Wilms'o naviko metastazavimą. Ląstelėms būdingos mezenchiminės savybės, jos išreiškia tokius žymenis kaip vimentinas, tačiau neturi epitelinių žymenų, pavyzdžiui, citokeratino, o tai rodo, kad jos yra kilusios iš naviko stromos komponento.

Atliekant Wilms'o10M tyrimus daugiausia dėmesio skiriama signaliniams keliams, kurie yra aktyvūs šiose metastazinėse ląstelėse. Proteominės analizės parodė, kad aktyvuotos kelios receptorių tirozino kinazės (RTK), įskaitant IGF1R, PDGFRβ ir AXL, kurios dalyvauja skatinant ląstelių išgyvenamumą, proliferaciją ir metastazinį potencialą. Taip pat suaktyvėja tolesni MAPK ir PI3K/AKT signaliniai keliai, atliekantys pagrindinį vaidmenį palaikant invazinį ir metastazinį Wilms10M ląstelių fenotipą. Atsižvelgiant į metastazinę Wilms10M kilmę, tai yra labai svarbus modelis, padedantis suprasti molekulinis įvykius, lemiančius Wilms'o naviko metastazavimą, ir kurti tikslines metastazinės ligos gydymo strategijas.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Inkstai

**Disease** Vilms'o navikas

**Applications** In vitro ląstelių kultūros modelis. Biocheminiai tyrimai

**Synonyms** Wilms10

## Charakteristikos

**Age** 2 metai

**Gender** Moteris

**Ethnicity** Kaukaziečių

**Morphology** Verpstės formos

## Wilms10M ląstelės | 300418

**Cell type** Vilmsio ląstelės**Growth properties** Priglundės

## Reguliavimo duomenys

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

## Biomolekuliniai duomenys

**Mutational profile** WT1 mutacijos būklė: homozigotinė del WT1 del11p13. LOH: nėra 11p13, bet UPD 11p15. CTNNB1 mutacijos būklė: homozigotinis del TCT, p.DS45, UPD 3p

## Tvarkymas

**Culture Medium** MSCGM rinkinys (iš "Lonza")**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## Wilms10M ląstelės | 300418

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## Wilms10M ląstelės | 300418

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.