

Wilms1 ląstelės | 300411**Bendra informacija****Description**

Wilms1 ląstelių linija buvo gauta iš pirminio Vilmsio naviko mėginio, paimto iš paciento, kuriam buvo nustatyti dideli abipusiai inkstų navikai, rodantys Vilmsio naviką, vaikų nefroblastomą. Ši ląstelių linija turi homozigotinę WT1 geno beprasmę mutaciją (c.149 C>A, p.S50X), dėl kurios WT1 baltymas yra sutrumpėjęs ir nefunkcionalus. WT1 genas, kuris yra labai svarbus inkstų vystymuisi ir funkcijai, dažnai mutuoja Vilmsio navikuose, ypač stromos potipio navikuose, kuriems būdinga ektochinė mezenchiminė diferenciacija. Todėl Wilms1 ląstelės yra unikalus in vitro modelis WT1 funkcijos praradimo pasekmėms naviko biologijoje tirti.

Wilms1 ląstelių linija išlaiko stabilų kariotipą be reikšmingų chromosominių anomalijų, todėl ją galima patikimai auginti ilgą laiką. Šioms ląstelėms būdingas mezenchiminis fenotipas, kuriam būdinga vimentino raiška ir epitelio žymenų, tokių kaip citokeratinas, nebuvimas, o tai atitinka jų stromos kilmę. Be to, ši ląstelių linija pasižymi ribotomis, bet pastebimomis mezenchiminės diferenciacijos savybėmis, įskaitant gebėjimą atitinkamomis sąlygomis diferencijuotis į raumenines ląsteles. Dėl to Wilms1 yra neįkainojama priemonė tiriant molekulinis mezenchiminės diferenciacijos mechanizmus ir jų dereguliaciją Vilmsio naviko patogenezėje.

Wilms1 taip pat buvo naudojamas tiriant pagrindinių signalinių kelių, susijusių su naviko progresavimu, aktyvumo būklę. Proteominės analizės parodė, kad "Wilms1" ląstelėse fosforilėja ir aktyvuojasi kelios receptorių tirozino kinazės, įskaitant EGFR ir PDGFRβ, taip pat tolesni MAPK signaliniai keliai. Šios išvados rodo, kad Wilms1 ląstelių linija yra svarbi tiriant tikslinius Wilmsio naviko gydymo metodus, išskiriant šių kelių vaidmenį vėžinių ląstelių išgyvenimui, proliferacijai ir diferenciacijai.

Organism Žmogus**Tissue** Inkstai**Applications** In vitro ląstelių kultūros modelis. Biocheminiai tyrimai**Synonyms** Wilms1-2l**Charakteristikos****Age** 2 metai**Gender** Moteris**Ethnicity** Kaukazių**Morphology** Verpstės formos**Cell type** Vilmsio ląstelės

Wilms1 ląstelės | 300411

Growth properties

Priglundės

Reguliavimo duomenys

Citation Wilms1 (Cytion katalogo numeris 300411)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SC

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed Receptorių tirozino kinazės EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, Axl**Tumorigenic** Taip, nuogoms pelėms. Formuojasi navikas su mažomis ląstelėmis, atitinkančiomis Vilmsio naviką (ksenograftai gali ne visiškai atitikti Vilmsio navikus, žr. E. Kuncė Stroup 2017 m.)**Viruses** ŽIV-1: neigiamas, HBV: neigiamas, HCV: neigiamas**Mutational profile** WT1 mutacijos būklė: homozigotinė c. 149 C>A, p.S50X, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutacijos būklė: heterozigotinė TCT>TTT, p.S45F**Karyotype** 46, normalus

Tvarkymas

Culture Medium MSCGM rinkinys (iš "Lonza")**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 valandos

Wilms1 ląstelės | 300411

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 perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 1×10^4 ląstelės/cm²

Fluid renewal 1-2 kartus per savaitę

Post-Thaw Recovery Greitai

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.

Wilms1 ląstelės | 300411**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°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°C temperatūros vandens vonelę su švriu 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 $300 \times g$ 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°C , 5 % 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°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°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Wilms1 ląstelės | 300411

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 skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

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.

HLA aleliai

A*: '03:01:01, '24:02:01

B*: '35:03:01, '38:01:01

C*: '12:03:01

DRB1*: '07:01:01, '14:54:01

DQA1*: '01:04:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:03:01

DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G

E: '01:03:01, '01:03:02