

## Wilms2 ląstelės | 300413

## Bendra informacija

## Description

Wilms2 ląstelių linija buvo išvesta iš pirminio Wilms naviko, kuris buvo diagnozuotas vaikui, sergančiam WT1 mutacija. Šiai ląstelių linijai būdinga homozigotinė nonsenso mutacija WT1 gene (c.1084 C>T, p.R362X), dėl kurios susidaro sutrumpintas, nefunkcionalus WT1 baltymas. Funkcinio WT1, geno, būtino inkstų vystymuisi, praradimas yra tam tikrų Vilms naviko potipių, ypač susijusių su mezenchimine ar stromos diferenciacija, požymis. Wilms2 ląstelių linija yra svarbus modelis tiriant navikinius procesus, kuriuos lemia WT1 praradimas, ypač atsižvelgiant į Vilms navikus, kurie išlaiko kitus svarbius genetinius požymius.

Wilms2 ląstelėse taip pat yra CTNNB1 geno, kuris koduoja  $\beta$ -kateniną, pagrindinę Wnt signalų kelio sudedamąją dalį, mutacijų. Dėl šių mutacijų, ypač paveikiančių 45-ąją seriną,  $\beta$ -kateninas stabilizuojasi ir kaupiasi, todėl konstituciškai suaktyvėja Wnt kelias. Šis suaktyvėjimas yra žinomas Vilms naviko ląstelių proliferacijos ir navikinio vystymosi veiksnys, todėl Wilms2 yra vertingas modelis, padedantis suprasti, kaip aberantinis Wnt signalas prisideda prie WT1 mutacijų navikų vystymosi ir progresavimo.

Pagal fenotipą Wilms2 ląstelės pasižymi į mezenchimines panašiomis savybėmis, jose aptinkamas vimentinas ir nėra epitelio žymenų, tokių kaip citokeratinas. Tai atitinka naviko stromos savybes ir pabrėžia WT1 vaidmenį reguliuojant mezenchiminiuos-epitelinius pokyčius inkstų vystymosi metu. Atlikus Wilms2 proteominę analizę, nustatyta, kad aktyvuotos kelios receptorių tirozino kinazės (RTK), įskaitant PDGFR $\beta$  ir AXL, kurios, kaip žinoma, palaiko naviko ląstelių išlikimą ir dauginimąsi. Be to, suaktyvėja ir tolesnės grandys, tokios kaip MAPK ir PI3K/AKT, o tai dar labiau prisideda prie Wilms2 ląstelių piktybinių savybių.

Apskritai Wilms2 ląstelių linija yra labai svarbi priemonė tiriant Wilms naviko, kurį lemia WT1 praradimas ir pakitęs Wnt signalas, molekulinis mechanizmus. Jos genetinės ir fenotipinės savybės yra patikima platforma, leidžianti tirti galimus terapinius taikinius ir suprasti pagrindinių signalinių kelių vaidmenį Vilms navikų su mezenchiminiu komponentu patologijoje.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Inkstai

**Disease** Vilms navikas

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

## Charakteristikos

**Age** 1 metai

**Gender** Vyras

**Ethnicity** Kaukazių

**Morphology** Verpstės formos

## Wilms2 ląstelės | 300413

**Cell type** Vilms2 ląstelės**Growth properties** Priglundės

## Reguliavimo duomenys

**Citation** Wilms2 (Cytion katalogo numeris 300413)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SE

## Biomolekuliniai duomenys

**Mutational profile** WT1 mutacijos būklė: homozigotinė c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutacijos būklė: heterozigotinė del TCT>TAT, p.S45Y

## 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.

## Wilms2 ląstelės | 300413

### 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.

## Wilms2 ląstelės | 300413

### 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 / 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.

### HLA aleliai

**A\***: '01:01:01, '02:01:01  
**B\***: '15:01:01, '57:01:01  
**C\***: '03:03:01, '07:01:01  
**DRB1\***: '04:01:01, '07:01:01  
**DQA1\***: '02:01:01, '03:01:01  
**DQB1\***: '03:02:01, '03:03:02  
**DPB1\***: '04:01:01G, '04:02:01G  
**E**: '01:01:01, '01:03:02