

## Wilms3 šūnas | 300414

## Vispārīga informācija

## Description

Wilms3 šūnu līnija tika izveidota no primārā Vilmsa audzēja, kas radies pediatriškai pacientei, kurai bija raksturīga somatiska WT1 mutācija. Atšķirībā no daudzām citām Vilmsa audzēja šūnu līnijām Wilms3 ir heterozigotiska WT1 gēna mutācija (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), kas izraisa saīsināta WT1 proteīna veidošanos. Šis daļējais WT1 funkcijas zudums ir saistīts ar audzēju attīstību, kam raksturīgs stromāls vai mezenhīma fenotips. Tomēr WT1 mutācija Wilms3 gadījumā nav homozigota, kas sarežģī tās izpēti, jo tā saglabā daļu WT1 funkcijas, kas var ietekmēt audzēja bioloģiju atšķirīgi salīdzinājumā ar šūnu līnijām ar pilnīgu WT1 zudumu.

Wilms3 ir arī mutācija CTNNB1 gēnā, kas īpaši ietekmē 41. treonīnu (p.T41A), kuram ir izšķiroša nozīme Wnt signalizācijas ceļā. Šī mutācija stabilizē β-Catenin, novēršot tā noārdīšanos un izraisot konstitutīvu Wnt ceļa aktivizāciju. Pastāvīga Wnt signālu aktivizācija veicina šūnu proliferāciju un sekmē audzēju veidošanos Wilms3, padarot to par galveno modeli CTNNB1 mutāciju ietekmes izpētei daļēji funkcionālā WT1 fona kontekstā.

Fenotipiski Wilms3 šūnām piemīt mezenhīmai morfoloģijai līdzīga morfoloģija, tās ekspresē vimentīnu un tām trūkst citokeratīna, kas atbilst sākotnējā audzējā novērotajām stromas īpašībām. Šīm šūnām piemīt ierobežots diferenciācijas potenciāls, un īpašos apstākļos tās spēj daļēji mezenhīmāli diferencēties. Wilms3 proteomikas analīzes atklāja vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp PDGFRβ un AXL, aktivizāciju, kas veicina šūnu izdzīvošanu un proliferāciju. Turklāt tiek aktivizēti tādi pakārtotie signalizācijas ceļi kā MAPK un PI3K/AKT, kas pastiprina Wilms3 šūnu ļaundabīgās īpašības.

Wilms3 unikāls aspekts ir tā daļējā WT1 funkcionalitāte, kas sniedz atšķirīgu skatījumu uz to, kā WT1 mutācijas veicina Wilms audzēja bioloģiju, ja mutācija nav pilnīga. WT1 un Wnt signālu mijiedarbība Wilms3 mutācijā sniedz vērtīgu iespēju pētīt niansētu lomu, kāda šiem ceļiem ir audzēja attīstībā. Kopumā Wilms3 kalpo kā svarīgs modelis, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir Vilmsa audzēja pamatā, ja ir daļējs WT1 zudums un konstitutīva Wnt ceļa aktivācija.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Nieres

**Disease** Vilmsa audzējs

**Applications** In vitro šūnu kultūras modelis. Bioķīmiskie pētījumi

## Raksturojums

**Age** 11-12 mēneši

**Gender** Vīrieši

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Vārpstas formas

## Wilms3 šūnas | 300414

**Cell type** Vilmsa šūnas**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** Wilms3 (Cytion kataloga numurs 300414)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SF

## Biomolekulārie dati

**Mutational profile** WT1 mutācijas statuss: homozigotiska c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutācijas statuss: savvaļas tips

## Darbs ar

**Culture Medium** MSCGM komplekts (no Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## Wilms3 šūnas | 300414

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## Wilms3 šūnas | 300414

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

### HLA alēles

**A\***: '03:01:01  
**B\***: '35:01:01, '35:03:01  
**C\***: '04:01:01  
**DRB1\***: '04:03:01, '11:04:01  
**DQA1\***: '03:01:01, '05:05:01  
**DQB1\***: '03:01:01, '03:02:01  
**DPB1\***: '01:01:01, '04:01:01  
**E**: '01:03:02, '01:06:01