

## Wilms10T šūnas | 300417

## Vispārīga informācija

## Description

Wilms10T šūnu līnija tika iegūta no primārā Vilmsa audzēja parauga, kas iegūts no pacienta ar Vilmsa audzēju - bērnu nefroblastomu. Šai šūnu līnijai ir raksturīga homozigotiska WT1 gēna delecija, kā rezultātā pilnībā tiek zaudēta WT1 funkcija, kas ir ļoti svarīgs gēns, kurš ir iesaistīts nieru attīstībā un normālas nieru diferenciācijas uzturēšanā. Atšķirībā no daudzām citām Vilmsa audzēja šūnu līnijām Wilms10T nav WT1 proteīna ekspresijas, kas atspoguļo nopietnās ģenētiskās izmaiņas šajā audzēja apakštipā. Turklāt Wilms10T šūnu līnijai piemīt heterozigotizātes zudums (LOH) 11p15 hromosomu apgabalā, kas ietver tādus svarīgus gēnus kā IGF2, kas vēl vairāk pastiprina tās audzēja īpašības.

Wilms10T šūnām ir stabils normāls kariotips bez būtiskām hromosomu pārkārtojumiem, izņemot specifisku WT1 reģiona izdzēšanu. Šī šūnu līnija ir plaši izmantota, lai pētītu pilnīgu WT1 zuduma ietekmi uz audzēju bioloģiju, tostarp tā ietekmi uz šūnu proliferāciju, diferenciāciju un reakciju uz dažādiem signālu ceļiem. Šīm šūnām saglabājas mezenhimālas īpašības, tās ekspresē tādus marķierus kā vimentīns, bet tām trūkst epitēlija marķieru, piemēram, citokeratīna, kas norāda uz to stromālo izcelsmi.

Nozīmīgi pētījumi ir vērsti uz Wilms10T šūnās aktivajiem signālu ceļiem. Proteomikas pētījumi liecina, ka šajās šūnās aktivizējas vairākas receptoru tirozīna kināzes (RTK), piemēram, IGF1R, PDGFRβ un AXL, kas, kā zināms, veicina audzēju veidošanos. Turklāt Wilms10T šūnās ir aktivizēti pakārtotie signalizācijas ceļi, tostarp MAPK un PI3K/AKT ceļi, kas veicina to agresīvo audzēja fenotipu. Visaptverošā Wilms10T raksturojuma dēļ tā ir vērtīgs modelis, lai pētītu Wilms audzēja ar pilnīgu WT1 zudumu molekulāro pamatu, kā arī lai izpētītu potenciālos terapeitiskos mērķus šajā agresīvā audzēja apakštipa gadījumā.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Nieres

**Disease** Vilmsa audzējs

**Applications** In vitro šūnu kultūras modelis un bioķīmiskie pētījumi

**Synonyms** Wilms10

## Raksturojums

**Age** 2 gadi

**Gender** Sievietes

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Vārpstas formas

**Wilms10T šūnas | 300417****Cell type** Vilmsa šūnas**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** Wilms10T (Cytion kataloga numurs 300417)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SL**Biomolekulārie dati****Mutational profile** WT1 mutācijas statuss: homozigotiska del WT1 del11p13. LOH: nav 11p13, bet UPD 11p15. CTNNB1 mutācijas statuss: homozigotiska del TCT, p.DS45, UPD 3p**Darbs ar****Culture Medium** MSCGM komplekts (no Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 46 stundas**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.**Seeding density**  $4 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 1 līdz 2 reizes nedēļā

## Wilms10T šūnas | 300417

### 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.

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 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 šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## Wilms10T šūnas | 300417

### 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\***: '01:01:01, '11:01:01  
**B\***: '18:01:01, '27:05:02  
**C\***: '01:02:01, '12:03:01  
**DRB1\***: '01:01:01, '11:04:01  
**DQA1\***: '01:01:01, '05:05:01  
**DQB1\***: '03:01:01, '05:01:01  
**DPB1\***: '04:01:01G, '04:02:01G  
**E**: '01:01:01