

## Wilms2 šūnas | 300413

## Vispārīga informācija

## Description

Wilms2 šūnu līnija tika iegūta no primārā Wilms audzēja pediatrika pacienta ar WT1 dzimumlīniju mutāciju. Šai šūnu līnijai ir raksturīga homozigotiska nonsensa mutācija WT1 gēnā (c.1084 C>T, p.R362X), kuras rezultātā veidojas saīsināts, nefunkcionāls WT1 proteīns. Funkcionālā WT1 gēna, kas ir būtisks nieru attīstībai, zudums ir raksturīga dažu Vilmsa audzēja apakštipu, jo īpaši to, kas saistīti ar mezenhimālo vai stromālo diferenciaciju, pazīme. Wilms2 šūnu līnija ir nozīmīgs modelis, lai pētītu WT1 zuduma izraisītos audzēja veidošanas procesus, jo īpaši saistībā ar Wilms audzējiem, kas saglabā citas kritiskas ģenētiskās iezīmes.

Wilms2 šūnās ir arī mutācijas CTNNB1 gēnā, kas kodē  $\beta$ -Catenin, galveno Wnt signalizācijas ceļa sastāvdaļu. Šīs mutācijas, kas īpaši ietekmē 45. serīnu, izraisa  $\beta$ -Catenin stabilizāciju un uzkrāšanos, kā rezultātā konstitīvi aktivizējas Wnt ceļš. Ir zināms, ka šī aktivizācija ir Vilmsa audzēja šūnu proliferācijas un audzēja rašanās virzītājspēks, tāpēc Wilms2 ir vērtīgs modelis, lai saprastu, kā aberantā Wnt signalizācija veicina audzēju ar WT1 mutācijām attīstību un progresēšanu.

Pēc fenotipa Wilms2 šūnām ir mezenhīmiska morfoloģija, tās ekspresē vimentīnu un tām trūkst epitēlija marķieru, piemēram, citokeratīna. Tas atbilst audzēja stromas īpašībām un uzsvēr WT1 lomu mezenhīma-epitēlija pāreju regulēšanā nieru attīstības laikā. Wilms2 proteomikas analizēs ir konstatēta vairāku receptoru tirozīna kināžu (RTK), tostarp PDGFR $\beta$  un AXL, aktivācija, kas, kā zināms, veicina audzēja šūnu izdzīvošanu un proliferāciju. Turklāt tiek aktivizēti arī tādi pakārtotie ceļi kā MAPK un PI3K/AKT, kas vēl vairāk veicina Wilms2 šūnu ļaundabīgās īpašības.

Kopumā Wilms2 šūnu līnija kalpo kā būtisks rīks, lai izpētītu molekulāros mehānismus Wilms audzējiem, ko izraisa WT1 zudums un aberatīva Wnt signalizācija. Tās ģenētiskās un fenotipiskās īpašības nodrošina stabilu platformu potenciālo terapeitisko mērķu izpētei un izpratnei par galveno signālu ceļu lomu Vilmsa audzēju ar mezenhīmālo komponentu patoloģijā.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Nieres

**Disease** Vilmsa audzējs

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

## Raksturojums

**Age** 1 gads

**Gender** Vīrieši

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Vārpstas formas

## Wilms2 šūnas | 300413

**Cell type** Vilmsa šūnas**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** Wilms2 (Cytion kataloga numurs 300413)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SE**Biomolekulārie dati****Mutational profile** WT1 mutācijas statuss: homozigotiska c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutācijas statuss: heterozigotiska del TCT>TAT, p.S45Y**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.

## Wilms2 šūnas | 300413

**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.

## Wilms2 šūnas | 300413

### 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, '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