

**Komórki Wilmsa10M | 300418****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Wilms10M została utworzona z przerzutowego guzka płuca pacjenta z guzem Wilmsa (nephroblastoma). Podobnie jak jej pierwotny odpowiednik, Wilms10T, linia komórkowa Wilms10M charakteryzuje się homozygotyczną delecją genu WT1, co skutkuje całkowitym brakiem białka WT1. WT1 jest niezbędny do prawidłowego rozwoju nerek, a jego delecja wiąże się z bardziej agresywnym zachowaniem nowotworu, szczególnie w przypadku przerzutów. Dodatkowo, komórki Wilms10M wykazują utratę heterozygotyczności (LOH) w regionie chromosomalnym 11p15, który obejmuje gen IGF2, co dodatkowo przyczynia się do złośliwych właściwości tych komórek.

Komórki Wilmsa10M utrzymują stabilny kariotyp bez większych rearanżacji chromosomalnych poza specyficzną delecją regionu WT1. Ta linia komórkowa, pochodząca z tkanki przerzutowej, jest szczególnie cenna do badania mechanizmów molekularnych, które napędzają przerzuty w guzie Wilmsa. Komórki wykazują cechy mezenchymalne, wyrażając markery takie jak wimentyna, przy jednoczesnym braku markerów nabłonkowych, takich jak cytokeratyna, co wskazuje na ich pochodzenie ze zrębu guza.

Badania nad Wilms10M koncentrowały się na szlakach sygnałowych, które są aktywne w tych komórkach przerzutowych. Analizy proteomiczne wykazały aktywację kilku receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK), w tym IGF1R, PDGFR $\beta$  i AXL, które są zaangażowane w promowanie przeżycia komórek, proliferacji i potencjału przerzutowego. Szlaki sygnałowe MAPK i PI3K/AKT są również aktywowane, odgrywając kluczową rolę w utrzymaniu inwazyjnego i przerzutowego fenotypu komórek Wilms10M. Biorąc pod uwagę jego przerzutowe pochodzenie, Wilms10M jest niezbędnym modelem do zrozumienia zdarzeń molekularnych leżących u podstaw przerzutów guza Wilmsa i do opracowania ukierunkowanych strategii terapeutycznych przeciwko chorobie przerzutowej.

**Organism** Człowiek**Tissue** Nerka**Disease** Guz Wilmsa**Applications** Model hodowli komórkowej in vitro. Badania biochemiczne**Synonyms** Wilms10**Charakterystyka****Age** 2 lata**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Wrzecionowaty kształt

**Komórki Wilmsa10M | 300418****Cell type** Komórki Wilmsa**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** Wilms10M (numer katalogowy Cytion 300418)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SL**Depositor** B. Royer-Pokora**Dane biomolekularne****Mutational profile** Status mutacji WT1: homozygotyczna del WT1 w del11p13. LOH: brak w 11p13, ale UPD w 11p15. Status mutacji CTNNB1: homozygotyczna del TCT, p.DS45, UPD 3p**Obsługa****Culture Medium** Zestaw MSCGM (od Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki Wilmsa10M | 300418****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki Wilmsa10M | 300418

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 12,12  
**D16S539:** 9,10  
**D5S818:** 10,12  
**D7S820:** 11,12  
**TH01:** 8,6  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 15,18  
**D3S1358:** 17,17  
**D21S11:** 29,30  
**D18S51:** 14,16  
**Penta E:** 7,10  
**Penta D:** 10,13  
**D8S1179:** 10,15  
**FGA:** 22,24