

**Komórki Wilmsa10T | 300417****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Wilms10T została uzyskana z pierwotnej próbki guza Wilmsa uzyskanej od pacjenta z guzem Wilmsa, nefroblastomą dziecięcą. Ta linia komórkowa charakteryzuje się homozygotyczną delecją genu WT1, co prowadzi do całkowitej utraty funkcji WT1, krytycznego genu zaangażowanego w rozwój nerek i utrzymanie prawidłowego różnicowania nerek. W przeciwieństwie do wielu innych linii komórkowych guza Wilmsa, Wilms10T nie wykazuje ekspresji białka WT1, co odzwierciedla poważne zmiany genetyczne obecne w tym podtypie guza. Dodatkowo, linia komórkowa Wilms10T wykazuje utratę heterozygotyczności (LOH) w regionie chromosomalnym 11p15, który obejmuje ważne geny, takie jak IGF2, co dodatkowo przyczynia się do jej właściwości nowotworowych.

Komórki Wilmsa10T mają stabilny, prawidłowy kariotyp bez większych rearanżacji chromosomalnych poza specyficzną delecją regionu WT1. Ta linia komórkowa była szeroko wykorzystywana do badania wpływu całkowitej utraty WT1 na biologię nowotworu, w tym jej wpływu na proliferację komórek, różnicowanie i odpowiedź na różne szlaki sygnałowe. Komórki zachowują cechy mezenchymalne, wyrażając markery takie jak wimentyna, przy jednoczesnym braku markerów nabłonkowych, takich jak cytokeratyna, co wskazuje na ich zrębowe pochodzenie.

Znaczące badania koncentrowały się na szlakach sygnałowych aktywnych w komórkach Wilmsa10T. Badania proteomiczne wykazały, że komórki te wykazują aktywację kilku receptorowych kinaz tyrozynowych (RTK), takich jak IGF1R, PDGFRβ i AXL, o których wiadomo, że napędzają nowotworzenie. Dodatkowo, szlaki sygnałowe, w tym szlaki MAPK i PI3K/AKT, są aktywowane w komórkach Wilms10T, przyczyniając się do ich agresywnego fenotypu nowotworowego. Kompleksowa charakterystyka Wilms10T sprawia, że jest to cenny model do badania molekularnych podstaw guza Wilmsa z całkowitą utratą WT1, a także do badania potencjalnych celów terapeutycznych w tym agresywnym podtypie guza.

**Organism** Człowiek**Tissue** Nerka**Disease** Guz Wilmsa**Applications** Model hodowli komórkowej in vitro i badania biochemiczne**Synonyms** Wilms10**Charakterystyka****Age** 2 lata**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski

**Komórki Wilmsa10T | 300417****Morphology** Wrzecionowaty kształt**Cell type** Komórki Wilmsa**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** Wilms10T (numer katalogowy Cytion 300417)**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**Doubling time** 46 godzin**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.

**Komórki Wilmsa10T | 300417****Seeding density**  $4 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 1 do 2 razy w tygodniu**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.**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°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°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 x 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°C, 5% CO<sub>2</sub>, nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

## Komórki Wilmsa10T | 300417

### 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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 wykluczone 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

**Komórki Wilmsa10T | 300417**

**Allele HLA**

**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