

Celice Wilms10M | 300418

Splošne informacije

Description

Celična linija Wilms10M je bila pridobljena iz metastatskega pljučnega nodula bolnika s tumorjem Wilms (nefroblastom). Za celično linijo Wilms10M je tako kot za njen primarni tumor Wilms10T značilna homozigotna delecija gena WT1, zaradi česar je beljakovina WT1 popolnoma odsotna. WT1 je bistvenega pomena za normalen razvoj ledvic, njegov izbris pa je povezan z agresivnejšim obnašanjem tumorja, zlasti v metastatskem okolju. Poleg tega imajo celice Wilms10M izgubo heterozigotnosti (LOH) v kromosomski regiji 11p15, ki vključuje gen IGF2, kar dodatno prispeva k malignim lastnostim teh celic.

Celice Wilms10M ohranjajo stabilen kariotip brez večjih kromosomskih preureditev, razen specifičnega izbrisa regije WT1. Ta celična linija, pridobljena iz metastatskega tkiva, je še posebej dragocena za preučevanje molekularnih mehanizmov, ki spodbujajo metastaziranje pri tumorju Wilms. Celice imajo mezenhimske značilnosti in izražajo označevalce, kot je vimentin, nimajo pa epiteljskih označevalcev, kot je citokeratin, kar kaže na njihov izvor iz stromalne komponente tumorja.

Raziskave o Wilms10M so se osredotočile na signalne poti, ki so aktivne v teh metastatskih celicah. Proteomske analize so pokazale aktivacijo več receptorskih tirozin kinaz (RTK), vključno z IGF1R, PDGFR β in AXL, ki sodelujejo pri spodbujanju preživetja, proliferacije in metastatskega potenciala celic. Aktivirajo se tudi signalne poti MAPK in PI3K/AKT, ki imajo ključno vlogo pri ohranjanju invazivnega in metastatskega fenotipa celic Wilms10M. Glede na metastatski izvor je Wilms10M bistven model za razumevanje molekularnih dogodkov, na katerih temelji metastaziranje tumorjev Wilms, in za razvoj usmerjenih terapevtskih strategij proti metastatski bolezni.

Organism	Človek
Tissue	Ledvice
Disease	Wilmsov tumor
Applications	In vitro model celične kulture. Biokemične študije
Synonyms	Wilms10

Značilnosti

Age	2 leti
Gender	Ženske
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Vretenasta oblika

Celice Wilms10M | 300418**Cell type** Wilmsove celice**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** Wilms10M (kataloška številka Cytion 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Biomolekularni podatki****Mutational profile** Mutacijski status WT1: homozigotna del WT1 znotraj del11p13. LOH: ni v 11p13, vendar UPD v 11p15. status mutacije CTNNB1: homozigotni del TCT, p.DS45, UPD 3p**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** Komplet MSCGM (Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice Wilms10M | 300418

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice Wilms10M | 300418

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.