

**Wilms10T Hücreleri | 300417****Genel bilgi****Description**

Wilms10T hücre hattı, pediatrik bir nefroblastom olan Wilms tümörlü bir hastadan elde edilen birincil Wilms tümör örneğinden türetilmiştir. Bu hücre hattı, WT1 geninin homozigot delesyonu ile karakterize edilir ve böbrek gelişimi ve normal böbrek farklılaşmasının sürdürülmesinde rol oynayan kritik bir gen olan WT1 fonksiyonunun tamamen kaybına yol açar. Diğer birçok Wilms tümör hücre dizisinin aksine, Wilms10T'de herhangi bir WT1 protein ekspresyonu yoktur, bu da bu tümör alt tipinde mevcut olan ciddi genetik değişiklikleri yansıtır. Ayrıca, Wilms10T hücre hattı, IGF2 gibi önemli genleri içeren 11p15 kromozomal bölgesinde heterozigotluk kaybı (LOH) sergileyerek tümörjenik özelliklerine daha fazla katkıda bulunur.

Wilms10T hücreleri, WT1 bölgesinin spesifik delesyonu dışında önemli bir kromozomal yeniden düzenleme içermeyen stabil bir normal karyotipe sahiptir. Bu hücre hattı, hücre çoğalması, farklılaşması ve çeşitli sinyal yollarına yanıt üzerindeki etkisi de dahil olmak üzere, tam WT1 kaybının tümör biyolojisi üzerindeki etkilerini incelemek için kapsamlı bir şekilde kullanılmıştır. Hücreler, vimentin gibi belirteçleri ifade ederek mezenkimal özelliklerini korurken, stromal kökenlerinin göstergesi olan sitokeratin gibi epitelyal belirteçlerden yoksundur.

Önemli araştırmalar Wilms10T hücrelerinde aktif olan sinyal yollarına odaklanmıştır. Proteomik çalışmalar, bu hücrelerin tümörigenezi yönlendirdiği bilinen IGF1R, PDGFR $\beta$  ve AXL gibi çeşitli reseptör tirozin kinazların (RTK'lar) aktivasyonunu gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, MAPK ve PI3K/AKT yolları da dahil olmak üzere aşağı akış sinyal yolları Wilms10T hücrelerinde aktive olarak agresif tümör fenotiplerine katkıda bulunur. Wilms10T'nin kapsamlı karakterizasyonu, onu tam WT1 kaybı olan Wilms tümörünün moleküler temellerini araştırmanın yanı sıra bu agresif tümör alt tipindeki potansiyel terapötik hedefleri keşfetmek için değerli bir model haline getirmektedir.

**Organism**

İnsan

**Tissue**

Böbrek

**Disease**

Wilms tümörü

**Applications**

In vitro hücre kültürü modeli ve biyokimyasal çalışmalar

**Synonyms**

Wilms10

**Özellikler****Age**

2 yıl

**Gender**

Kadın

**Ethnicity**

Kafkas

**Morphology**

İğ şeklinde

## Product sheet

### Wilms10T Hücreleri | 300417

**Cell type** Wilms hücreleri

**Growth properties** Yapışık

### Düzenleyici Veriler

**Citation** Wilms10T (Cytion katalog numarası 300417)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SL

### Biyomoleküler Veriler

**Mutational profile** WT1 mutasyon durumu: del11p13 içinde homozigot del WT1. LOH: 11p13'te yok ancak 11p15'te UPD. CTNNB1 mutasyon durumu: homozigot del TCT, p.DS45, UPD 3p

### Elleçleme

**Culture Medium** MSCGM kiti (Lonza'dan)

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 46 saat

**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

**Seeding density**  $4 \times 10^4$  hücre/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** haftada 1 ila 2 kez

**Wilms10T Hücreleri | 300417****Freeze medium**

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyovialleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation Atmosphere**

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

**Flask Coating**

Yok

**Freezing Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## Wilms10T Hücreleri | 300417

### Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

### HLA alelleri

**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