

Buňky Wilms10M | 300418

Obecné informace

Description

Buněčná linie Wilms10M byla vytvořena z metastatického plicního uzlíku pacienta s Wilmsovým nádorem (nefroblastomem). Stejně jako její primární nádorový protějšek Wilms10T je buněčná linie Wilms10M charakterizována homozygotní delecí genu WT1, což vede k úplné absenci proteinu WT1. WT1 je nezbytný pro normální vývoj ledvin a jeho delece je spojena s agresivnějším chováním nádoru, zejména v metastatickém prostředí. Buňky Wilms10M navíc vykazují ztrátu heterozygoty (LOH) v chromozomální oblasti 11p15, která zahrnuje gen IGF2, což dále přispívá k maligním vlastnostem těchto buněk.

Buňky Wilms10M si zachovávají stabilní karyotyp bez větších chromozomálních přestaveb kromě specifické delece oblasti WT1. Tato buněčná linie odvozená z metastazující tkáně je obzvláště cenná pro studium molekulárních mechanismů, které u Wilmsova nádoru způsobují metastazování. Buňky vykazují mezenchymální vlastnosti, exprimují markery, jako je vimentin, zatímco postrádají epiteliální markery, jako je cytokeratin, což svědčí o jejich původu ze stromální složky nádoru.

Výzkum Wilms10M se zaměřil na signální dráhy, které jsou v těchto metastatických buňkách aktivní. Proteomické analýzy prokázaly aktivaci několika receptorových tyrozinkináz (RTK), včetně IGF1R, PDGFR β a AXL, které se podílejí na podpoře přežívání, proliferace a metastatického potenciálu buněk. Aktivovány jsou také navazující signální dráhy MAPK a PI3K/AKT, které hrají klíčovou roli při udržování invazivního a metastatického fenotypu buněk Wilms10M. Vzhledem ke svému metastatickému původu je Wilms10M zásadním modelem pro pochopení molekulárních dějů, které jsou základem metastazování Wilmsova nádoru, a pro vývoj cílených terapeutických strategií proti metastatickému onemocnění.

| | |
|---------------------|--|
| Organism | Člověk |
| Tissue | Ledviny |
| Disease | Wilmsův nádor |
| Applications | Model buněčné kultury in vitro. Biochemické studie |
| Synonyms | Wilms10 |

Charakteristika

| | |
|-------------------|------------------|
| Age | 2 roky |
| Gender | Ženy |
| Ethnicity | Kavkazský |
| Morphology | Vřetenovitý tvar |

Buňky Wilms10M | 300418**Cell type** Wilmsovy buňky**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** Wilms10M (katalogové číslo Cytion 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekulární data****Mutational profile** Stav mutace WT1: homozygotní del WT1 v rámci del11p13. LOH: žádná v 11p13, ale UPD v 11p15. Stav mutace CTNNB1: homozygotní del TCT, p.DS45, UPD 3p**Zpracování****Culture Medium** Souprava MSCGM (od společnosti Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro buňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro buňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro buňky T25 a 2,5 ml pro buňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky Wilms10M | 300418**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky Wilms10M | 300418

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

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