

Buňky Wilms1 | 300411**Obecné informace****Description**

Buněčná linie Wilms1 byla odvozena ze vzorku primárního Wilmsova nádoru získaného od pacienta s rozsáhlými oboustrannými nádory ledvin, které svědčí pro Wilmsův nádor, dětský nefroblastom. Tato buněčná linie obsahuje homozygotní nonsense mutaci v genu WT1 (c.149 C>A, p.S50X), která vede ke zkrácení a nefunkčnosti proteinu WT1. Gen WT1, který má zásadní význam pro vývoj a funkci ledvin, je často mutován u Wilmsových nádorů, zejména u nádorů stromálního podtypu, které vykazují ektopickou mezenchymální diferenciaci. Buňky Wilms1 proto představují jedinečný in vitro model pro studium důsledků ztráty funkce WT1 v biologii nádoru.

Buněčná linie Wilms1 si zachovává stabilní karyotyp bez významných chromozomálních abnormalit, což umožňuje spolehlivou dlouhodobou kultivaci. Tyto buňky vykazují mezenchymální fenotyp charakterizovaný expresí vimentinu a absencí epiteliálních markerů, jako je cytokeratin, což odpovídá jejich stromálnímu původu. Kromě toho tato buněčná linie vykazuje omezenou, ale pozoruhodnou schopnost mezenchymální diferenciaci, včetně schopnosti diferencovat se za vhodných podmínek na buňky podobné svalům. Díky tomu je Wilms1 neocenitelným nástrojem pro zkoumání molekulárních mechanismů mezenchymální diferenciaci a její deregulace v patogenezi Wilmsova nádoru.

Wilms1 byl také použit ke studiu stavu aktivace klíčových signálních drah, které se podílejí na progresi nádoru. Proteomické analýzy ukázaly, že buňky Wilms1 vykazují fosforylaci a aktivaci několika receptorových tyrozinkináz, včetně EGFR a PDGFR β , a také navazujících signálních drah MAPK. Tato zjištění zdůrazňují význam buněčné linie Wilms1 pro zkoumání cílených terapeutických přístupů k Wilmsovu nádoru prostřednictvím rozboru úlohy těchto drah v přežívání, proliferaci a diferenciaci nádorových buněk.

Organism	Člověk
Tissue	Ledviny
Applications	Model buněčné kultury in vitro. Biochemické studie
Synonyms	Wilms1-2l

Charakteristika

Age	2 roky
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Vřetenovitý tvar
Cell type	Wilmsovy buňky

Buňky Wilms1 | 300411

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation Wilms1 (katalogové číslo Cytion 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Depositor B. Royer-Pokora

Biomolekulární data

Receptors expressed Receptorové tyrozinkinázy EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Ano, na nahých myších. Tvoří nádor s malými buňkami odpovídající Wilmsovu nádoru (xenografty nemusí zcela reprezentovat Wilmův nádor, viz E. Kuncce Stroup 2017)

Viruses HIV-1: negativní, HBV: negativní, HCV: negativní

Mutational profile Stav mutace WT1: homozygotní c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, stav mutace CTNNB1: heterozygotní TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normální

Zpracování

Culture Medium Souprava MSCGM (od společnosti Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 hodin

Buňky Wilms1 | 300411

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky 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 rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Seeding density 1×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal 1 až 2krát týdně

Post-Thaw Recovery Rychle

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 kryem.

Buňky Wilms1 | 300411**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 odstředujte 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 Wilms1 | 300411**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,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11,13
D16S539: 11,14
D5S818: 12,13,14
D7S820: 9,14
TH01: 9,3
TPOX: 8,9
vWA: 14,19
D3S1358: 14,17,18
D21S11: 30,31
D18S51: 15,18
Penta E: 5,14
Penta D: 13
D8S1179: 12,14
FGA: 22,25

Alely HLA

A*: '03:01:01, '24:02:01
B*: '35:03:01, '38:01:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '07:01:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:03:01, '01:03:02