

Wilms6 buňky | 300415**Obecné informace****Description**

Buněčná linie Wilms6 byla vytvořena z primárního Wilmsova nádoru u dětského pacienta se zárodečnou mutací WT1. Tato buněčná linie je definována homozygotní nonsense mutací v genu WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), která vede ke zkrácení a nefunkčnosti proteinu WT1. WT1 je kritickým regulátorem vývoje ledvin a jeho ztráta je silně spojena s Wilmsovým nádorem, zejména v případech vykazujících mezenchymální diferenciaci. Buněčná linie Wilms6 je důležitým modelem pro studium tumorigenních účinků úplné ztráty WT1, zejména v kontextu nádorů, které vykazují jak epiteliální, tak mezenchymální charakteristiky.

Buňky Wilms6 nesou také mutaci v genu CTNNB1, která konkrétně postihuje serin 45 (p.S45F), klíčové místo pro fosforylaci, která reguluje degradaci β -kateninu. Tato mutace vede ke stabilizaci a jaderné akumulaci β -Cateninu, což vede ke konstitutivní aktivaci signální dráhy Wnt. Aberantní aktivace signalizace Wnt je známým faktorem buněčné proliferace a tumorigeneze u Wilmsových nádorů, což z Wilms6 činí cenný nástroj pro zkoumání role dysregulace dráhy Wnt u nádorů s mutací WT1.

Fenotypicky vykazují buňky Wilms6 mezenchymální morfologii se silnou expresí vimentinu a absencí epiteliálních markerů, jako je cytokeratin, což odráží stromální povahu původního nádoru. Bylo prokázáno, že tyto buňky mají omezený, ale pozoruhodný diferenciační potenciál, včetně schopnosti diferencovat se za specifických podmínek na buňky podobné svalům, což odráží mezenchymální diferenciaci pozorovanou u některých Wilmsových nádorů. Proteomické studie Wilmsových nádorů6 identifikovaly aktivaci několika receptorových tyrozinkináz (RTK), včetně PDGFR β a AXL, které se podílejí na podpoře přežívání, proliferace a migrace buněk. Následná aktivace signálních drah, jako jsou MAPK a PI3K/AKT, dále podtrhuje agresivní povahu této buněčné linie.

Celkově lze říci, že buněčná linie Wilms6 slouží jako klíčový model pro zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem vzniku Wilmsova nádoru, zejména v případech úplné ztráty WT1 v kombinaci s aktivací signalizace Wnt. Díky svým genetickým a fenotypovým vlastnostem je vynikající platformou pro studium vzájemného působení mezi nedostatkem WT1 a aberantními signálními drahami, což poskytuje poznatky o potenciálních terapeutických cílech pro tento agresivní typ nádoru.

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

Charakteristika

Age	15 měsíců
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský

Wilms6 buňky | 300415**Morphology** Vřetenovitý tvar**Cell type** Wilmsovy buňky**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** Wilms6 (katalogové číslo Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomolekulární data****Mutational profile** Stav mutace WT1: homozygotní c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, stav mutace CTNNB1: homozygotní del TCT, p.DS45**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 hořčičku. 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.

Wilms6 buňky | 300415**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.

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 zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte 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.

Wilms6 buňky | 300415**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.

**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 vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 8,11
D16S539: 9,11
D5S818: 8,9
D7S820: 8,11
TH01: 9,9
TPOX: 11,11
vWA: 16,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,30
D18S51: 12,16
Penta E: 8,13
Penta D: 11,11
D8S1179: 11,13
FGA: 22,23

Alely HLA

A*: '02:05:01, '29:01:01
B*: '07:05:01, '13:02:01
C*: '06:02:01, '15:05:02
DRB1*: '07:01:01, '10:01:01
DQA1*: '01:05:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:01:01
DPB1*: '04:02:01, '17:01:01
E: '01:01:01