

## Wilmsovy11 buňky | 300420

## Obecné informace

## Description

Buněčná linie Wilms11 byla odvozena z primárního Wilmsova nádoru (nefroblastomu) u dětského pacienta. Na rozdíl od mnoha jiných buněčných linií Wilmsova nádoru je Wilms11 charakterizována přítomností divokého typu WT1, což znamená, že neobsahuje mutace v genu WT1, které jsou obvykle spojeny s Wilmsovými nádory vykazujícími agresivnější nebo stromální fenotyp. Nádor Wilms11 však vykazoval výraznou stromální diferenciaci s velkými oblastmi rabdomyomatózní diferenciaci, což svědčí o mezenchymálních prvcích v nádoru. Přítomnost divokého typu WT1 spolu se stromální diferenciací nádoru poskytuje jedinečný model pro pochopení biologie Wilmsova nádoru v případech, kdy mutace WT1 chybí.

Genetické studie Wilmsova nádoru11 ukázaly, že tato buněčná linie nese nádorově specifickou mutaci v CTNNB1, genu kódujícím  $\beta$ -katenin, který hraje klíčovou roli v signální dráze Wnt. U Wilms11 tato mutace postihuje serin 45, klíčové fosforylační místo, které se podílí na degradaci  $\beta$ -Cateninu. Mutace CTNNB1 vede ke stabilizaci  $\beta$ -Cateninu, což vede k jeho akumulaci a konstitutivní aktivaci signální dráhy Wnt, která je hnací silou buněčné proliferace a tumorigeneze. Díky tomu je Wilms11 důležitým modelem pro studium vzájemného působení signalizace Wnt a vývoje Wilmsova nádoru, zejména v případech, kdy WT1 zůstává intaktní.

Proteomické analýzy Wilms11 odhalily aktivaci několika receptorových tyrozinkináz (RTK), včetně PDGFR $\beta$  a AXL, které se podílejí na řízení růstu a přežívání nádorových buněk. V buňkách Wilms11 jsou rovněž aktivovány navazující signální dráhy, například dráhy MAPK a PI3K/AKT, což přispívá k jejich nádorovému chování. Schopnost buněk Wilms11 procházet mezenchymální diferenciací, zejména rabdomyomatózní diferenciací, zdůrazňuje jejich potenciál jako modelu pro studium mezenchymálních složek Wilmsova nádoru. Celkově lze říci, že buňky Wilms11 slouží jako cenný nástroj pro zkoumání molekulárních mechanismů, které řídí Wilmsův tumor v nepřítomnosti mutací WT1, ale v kontextu aktivace dráhy Wnt.

**Organism** Člověk

**Tissue** Ledviny

**Disease** Wilmsův nádor

**Applications** Model buněčné kultury in vitro. Biochemické studie

## Charakteristika

**Age** 22 měsíců

**Gender** Muži

**Ethnicity** Kavkazský

**Morphology** Vřetenovitý tvar

**Cell type** Wilmsovy buňky

## Wilmsovy11 buňky | 300420

**Growth properties** Adherentní

## Regulační údaje

**Citation** Wilms11 (katalogové číslo Cytion 300420)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SM

**Depositor** B. Royer-Pokora

## Biomolekulární data

**Mutational profile** Stav mutace WT1: homozygotní WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . Stav mutace CTNNB1: divoký typ

## 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 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.

**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.

**Wilmsovy11 buňky | 300420****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 %  $\text{CO}_2$ , 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.

## Wilmsovy11 buňky | 300420

### 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:** 10,12  
**D13S317:** 12,12  
**D16S539:** 11,12  
**D5S818:** 12,13  
**D7S820:** 8,9  
**TH01:** 6,6  
**TPOX:** 9,11  
**vWA:** 17,18  
**D3S1358:** 15,17  
**D21S11:** 29,30  
**D18S51:** 14,21  
**Penta E:** 5,7  
**Penta D:** 11,11  
**D8S1179:** 13,13  
**FGA:** 23,26