

Bunky Wilms10M | 300418**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia Wilms10M bola vytvorená z metastatického pľúcneho uzla pacienta s Wilmsovým nádorom (nefroblastómom). Podobne ako jej primárny nádorový náprotivok Wilms10T, aj bunkovú líniu Wilms10M charakterizuje homozygotná delécia génu WT1, čo vedie k úplnej absencii proteínu WT1. WT1 je nevyhnutný pre normálny vývoj obličiek a jeho delécia sa spája s agresívnejším nádorovým správaním, najmä v metastatickom prostredí. Okrem toho bunky Wilms10M vykazujú stratu heterozygotnosti (LOH) v chromozómovej oblasti 11p15, ktorá zahŕňa gén IGF2, čo ďalej prispieva k malígnym vlastnostiam týchto buniek.

Bunky Wilms10M si zachovávajú stabilný karyotyp bez väčších chromozomálnych prestavieb okrem špecifickej delécie oblasti WT1. Táto bunková línia, odvodená z metastatického tkaniva, je obzvlášť cenná na štúdium molekulárnych mechanizmov, ktoré poháňajú metastázovanie Wilmsovho nádoru. Bunky vykazujú mezenchýmové vlastnosti, exprimujú markery ako vimentín, pričom im chýbajú epitelové markery ako cytokeratín, čo svedčí o ich pôvode zo stromálnej zložky nádoru.

Výskum Wilms10M sa zameril na signálne dráhy, ktoré sú aktívne v týchto metastatických bunkách. Proteomické analýzy preukázali aktiváciu niekoľkých receptorových tyrozínkináz (RTK) vrátane IGF1R, PDGFR β a AXL, ktoré sa podieľajú na podpore prežívania, proliferácie a metastatického potenciálu buniek. Aktivované sú aj naväzujúce signálne dráhy MAPK a PI3K/AKT, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu pri udržiavaní invazívneho a metastatického fenotypu buniek Wilms10M. Vzhľadom na svoj metastatický pôvod je Wilms10M základným modelom na pochopenie molekulárnych udalostí, ktoré sú základom metastázovania Wilmsovho nádoru, a na vývoj cieľených terapeutických stratégií proti metastatickému ochoreniu.

Organism	Ľudské
Tissue	Obličky
Disease	Wilmsov nádor
Applications	Model bunkovej kultúry in vitro. Biochemické štúdie
Synonyms	Wilms10

Charakteristika

Age	2 roky
Gender	Ženy
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Vreteno v tvare vretena

Bunky Wilms10M | 300418**Cell type** Wilmsove bunky**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** Wilms10M (katalógové číslo Cytion 300418)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SL**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Stav mutácie WT1: homozygotná del WT1 v rámci del11p13. LOH: žiadna v 11p13, ale UPD v 11p15. Stav mutácie CTNNB1: homozygotná del TCT, p.DS45, UPD 3p**Spracovanie****Culture Medium** Súprava MSCGM (od spoločnosti Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky Wilms10M | 300418

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.