

Bunky Wilms1 | 300411**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia Wilms1 bola odvodená zo vzorky primárneho Wilmsovho nádoru získaného od pacienta s veľkými bilaterálnymi nádormi obličiek, ktoré svedčia o Wilmsovom nádore, detskom nefroblastóme. Táto bunková línia obsahuje homozygotnú nezmyselnú mutáciu v géne WT1 (c.149 C>A, p.S50X), ktorá vedie k skráteniu a nefunkčnosti proteínu WT1. Gén WT1, ktorý je rozhodujúci pre vývoj a funkciu obličiek, je často mutovaný pri Wilmsovom nádore, najmä pri stromálnom podtype, ktorý vykazuje ektopickú mezenchymálnu diferenciáciu. Bunky Wilms1 preto predstavujú jedinečný in vitro model na štúdium dôsledkov straty funkcie WT1 v biológii nádorov.

Bunková línia Wilms1 si zachováva stabilný karyotyp bez významných chromozomálnych abnormalít, čo umožňuje spoľahlivú dlhodobú kultiváciu. Tieto bunky vykazujú mezenchymový fenotyp charakterizovaný expresiou vimentínu a absenciou epitelových markerov, ako je cytokeratín, čo zodpovedá ich stromálnemu pôvodu. Okrem toho táto bunková línia vykazuje obmedzenú, ale pozoruhodnú schopnosť mezenchymálnej diferenciácie vrátane schopnosti diferencovať sa za vhodných podmienok na bunky podobné svalom. To robí z Wilms1 neoceniteľný nástroj na skúmanie molekulárnych mechanizmov mezenchymálnej diferenciácie a jej deregulácie v patogenéze Wilmsovho nádoru.

Wilms1 sa tiež používa na štúdium stavu aktivácie kľúčových signálnych dráh, ktoré sa podieľajú na progresii nádorov. Proteomické analýzy ukázali, že bunky Wilms1 vykazujú fosforyláciu a aktiváciu viacerých receptorových tyrozínkináz vrátane EGFR a PDGFR β , ako aj nadväzujúcich signálnych dráh MAPK. Tieto zistenia zdôrazňujú význam bunkovej línie Wilms1 pri skúmaní cielených terapeutických prístupov k Wilmsovmu nádoru prostredníctvom rozboru úlohy týchto dráh pri prežívaní, proliferácii a diferenciácii nádorových buniek.

Organism	Ľudské
Tissue	Obličky
Applications	Model bunkovej kultúry in vitro. Biochemické štúdie
Synonyms	Wilms1-2l

Charakteristika

Age	2 roky
Gender	Ženy
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Vreteno v tvare vretena
Cell type	Wilmsove bunky

Bunky Wilms1 | 300411

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation Wilms1 (katalógové číslo Cytion 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Biomolekulárne údaje

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

Tumorigenic Áno, na nahých myšiach. Tvorí nádor s malými bunkami zodpovedajúcimi Wilmsovmu nádoru (xenografty nemusia úplne reprezentovať Wilmove nádory, pozri E. Kuncce Stroup 2017)

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

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

Karyotype 46, normálne

Spracovanie

Culture Medium Súprava MSCGM (od spoločnosti Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 hodín

Bunky Wilms1 | 300411

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.

Seeding density 1×10^4 buniek/cm²

Fluid renewal 1 až 2-krát týždenne

Post-Thaw Recovery Rýchle

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 Wilms1 | 300411**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 Wilms1 | 300411

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.

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