

Bunky Wilms3 | 300414**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia Wilms3 bola vytvorená z primárneho Wilmsovho nádoru u detského pacienta, ktorý bol charakterizovaný somatickou mutáciou WT1. Na rozdiel od mnohých iných bunkových línií Wilmsovho nádoru je Wilms3 nositeľom heterozygotnej mutácie v géne WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), ktorá vedie k produkcii skráteneho proteínu WT1. Táto čiastočná strata funkcie WT1 je spojená s rozvojom nádorov, ktoré vykazujú stromálny alebo mezenchymálny fenotyp. Mutácia WT1 v bunke Wilms3 však nie je homozygotná, čo zvyšuje zložitosť jej štúdia, keďže si zachováva určitú funkciu WT1, ktorá môže ovplyvňovať biológiu nádoru odlišne v porovnaní s bunkovými líniami s úplnou stratou WT1.

Wilms3 nesie aj mutáciu v géne CTNNB1, konkrétne postihujúcu treonín 41 (p.T41A), ktorý zohráva kritickú úlohu v signálnej dráhe Wnt. Táto mutácia stabilizuje β -katenín, čím zabraňuje jeho degradácii a vedie ku konštitutívnej aktivácii dráhy Wnt. Pretrvávajúca aktivácia signalizácie Wnt poháňa proliferáciu buniek a prispieva k nádorovému bujneniu u Wilms3, čo z neho robí kľúčový model na štúdium vplyvu mutácií CTNNB1 v kontexte čiastočne funkčného pozadia WT1.

Fenotypovo bunky Wilms3 vykazujú mezenchymovú morfológiu, exprimujú vimentín a chýba im cytokeratín, čo zodpovedá stromálnym charakteristikám pozorovaným v pôvodnom nádore. Tieto bunky vykazujú obmedzený diferenciačný potenciál so schopnosťou prejsť určitou mezenchymovou diferenciáciou za špecifických podmienok. Proteomické analýzy Wilms3 odhalili aktiváciu niekoľkých receptorových tyrozínkináz (RTK) vrátane PDGFR β a AXL, ktoré podporujú prežívanie a proliferáciu buniek. Okrem toho sa aktivujú nadväzujúce signálne dráhy, ako sú MAPK a PI3K/AKT, čo posilňuje malígne vlastnosti buniek Wilms3.

Jedným z jedinečných aspektov Wilms3 je jeho čiastočná funkčnosť WT1, ktorá poskytuje osobitný pohľad na to, ako mutácie WT1 prispievajú k biológii Wilmsovho nádoru, keď mutácia nie je úplná. Vzájomné pôsobenie signalizácie WT1 a Wnt v Wilms3 ponúka cennú príležitosť na štúdium diferencovaných úloh, ktoré tieto dráhy zohrávajú pri vývoji nádorov. Celkovo Wilms3 slúži ako dôležitý model na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom Wilmsovho nádoru v prítomnosti čiastočnej straty WT1 a konštitutívnej aktivácie dráhy Wnt.

Organism Ľudské**Tissue** Obličky**Disease** Wilmsov nádor**Applications** Model bunkovej kultúry in vitro. Biochemické štúdie**Charakteristika****Age** 11-12 mesiacov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský

Bunky Wilms3 | 300414**Morphology** Vreteno v tvare vretena**Cell type** Wilmsove bunky**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** Wilms3 (katalógové číslo Cytion 300414)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SF**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Stav mutácie WT1: homozygotná c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH: 11p11-11pter, stav mutácie CTNNB1: divoký typ**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 Wilms3 | 300414**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 Wilms3 | 300414

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
B*: '35:01:01, '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:03:01, '11:04:01
DQA1*: '03:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '03:02:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:03:02, '01:06:01