

**Bunky Wilms10T | 300417****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia Wilms10T bola odvodená zo vzorky primárneho Wilmsovho nádoru získaného od pacienta s Wilmsovým nádorom, detským nefroblastómom. Táto bunková línia je charakterizovaná homozygotnou deléciou génu WT1, čo vedie k úplnej strate funkcie WT1, kritického génu, ktorý sa podieľa na vývoji obličiek a udržiavaní normálnej diferenciácie obličiek. Na rozdiel od mnohých iných bunkových línií Wilmsovho nádoru, Wilms10T nemá žiadnu expresiu proteínu WT1, čo odráža závažné genetické zmeny prítomné v tomto podtype nádoru. Okrem toho bunková línia Wilms10T vykazuje stratu heterozygoty (LOH) v chromozómovej oblasti 11p15, ktorá zahŕňa dôležité gény, ako je IGF2, čo ďalej prispieva k jej nádorovým vlastnostiam.

Bunky Wilms10T majú stabilný normálny karyotyp bez väčších chromozomálnych prestavieb okrem špecifickej delécie oblasti WT1. Táto bunková línia sa vo veľkej miere využíva na štúdium účinkov úplnej straty WT1 na nádorovú biológiu vrátane jej vplyvu na bunkovú proliferáciu, diferenciáciu a reakciu na rôzne signálne dráhy. Bunky si zachovávajú mezenchýmové vlastnosti a exprimujú markery, ako je vimentín, pričom im chýbajú epitelové markery, ako je cytokeratín, čo poukazuje na ich stromálny pôvod.

Významný výskum sa zamerl na signálne dráhy aktívne v bunkách Wilms10T. Proteomické štúdie preukázali, že tieto bunky vykazujú aktiváciu niekoľkých receptorových tyrozínkináz (RTK), ako sú IGF1R, PDGFR $\beta$  a AXL, o ktorých je známe, že podporujú tumorigenézu. Okrem toho sú v bunkách Wilms10T aktivované nadväzujúce signálne dráhy vrátane dráh MAPK a PI3K/AKT, čo prispieva k ich agresívnemu nádorovému fenotypu. Komplexná charakteristika Wilms10T z neho robí cenný model na skúmanie molekulárnych základov Wilmsovho nádoru s úplnou stratou WT1, ako aj na skúmanie potenciálnych terapeutických cieľov v tomto agresívnom podtype nádoru.

<b>Organism</b>	Ľudské
<b>Tissue</b>	Obličky
<b>Disease</b>	Wilmsov nádor
<b>Applications</b>	Model bunkovej kultúry in vitro a biochemické štúdie
<b>Synonyms</b>	Wilms10

**Charakteristika**

<b>Age</b>	2 roky
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Ethnicity</b>	Kaukazský
<b>Morphology</b>	Vreteno v tvare vretena

**Bunky Wilms10T | 300417****Cell type** Wilmsove bunky**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** Wilms10T (katalógové číslo Cytion 300417)**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**Doubling time** 46 hodín**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**  $4 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 1 až 2-krát týždenne

**Bunky Wilms10T | 300417****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.

**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 %  $\text{CO}_2$ , 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.

## Bunky Wilms10T | 300417

### 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.

### 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\***: '01:01:01, '11:01:01  
**B\***: '18:01:01, '27:05:02  
**C\***: '01:02:01, '12:03:01  
**DRB1\***: '01:01:01, '11:04:01  
**DQA1\***: '01:01:01, '05:05:01  
**DQB1\***: '03:01:01, '05:01:01  
**DPB1\***: '04:01:01G, '04:02:01G  
**E**: '01:01:01