

Bunky Wilms6 | 300415**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia Wilms6 bola vytvorená z primárneho Wilmsovho nádoru u detského pacienta so zárodočnou mutáciou WT1. Táto bunková línia je definovaná homozygotnou nezmyselnou mutáciou v géne WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), ktorej výsledkom je skrátený a nefunkčný proteín WT1. WT1 je kritickým regulátorom vývoja obličiek a jeho strata je silne spojená s Wilmsovým nádorom, najmä v prípadoch vykazujúcich mezenchymálnu diferenciáciu. Bunková línia Wilms6 je dôležitým modelom na štúdium tumorigénnych účinkov úplnej straty WT1, najmä v kontexte nádorov, ktoré vykazujú epitelové aj mezenchymálne charakteristiky.

Bunky Wilms6 tiež nesú mutáciu v géne CTNNB1, ktorá konkrétne postihuje serín 45 (p.S45F), kľúčové miesto pre fosforyláciu, ktorá reguluje degradáciu β -katenínu. Táto mutácia vedie k stabilizácii a jadrovej akumulácii β -Cateninu, čo má za následok konštitutívnu aktiváciu signálnej dráhy Wnt. Aberantná aktivácia signalizácie Wnt je známym hnacím motorom bunkovej proliferácie a tumorigenézy v nádoroch Wilms, vďaka čomu je Wilms6 cenným nástrojom na skúmanie úlohy dysregulácie dráhy Wnt v nádoroch s mutáciami WT1.

Fenotypovo bunky Wilms6 vykazujú mezenchýmovú morfológiu so silnou expresiou vimentínu a absenciou epitelových markerov, ako je cytokeratín, čo odráža stromálnu povahu pôvodného nádoru. Ukázalo sa, že tieto bunky majú obmedzený, ale pozoruhodný diferenciačný potenciál vrátane schopnosti diferencovať sa za špecifických podmienok na bunky podobné svalom, čo odráža mezenchýmovú diferenciáciu pozorovanú v niektorých Wilmsových nádoroch. Proteomické štúdie Wilmsovho nádoru6 identifikovali aktiváciu viacerých receptorových tyrozínkináz (RTK) vrátane PDGFR β a AXL, ktoré sa podieľajú na podpore prežívania, proliferácie a migrácie buniek. Následná aktivácia signálnych dráh, ako sú MAPK a PI3K/AKT, ďalej zdôrazňuje agresívnu povahu tejto bunkovej línie.

Celkovo slúži bunková línia Wilms6 ako kľúčový model na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom vývoja Wilmsovho nádoru, najmä v prípadoch úplnej straty WT1 v kombinácii s aktiváciou signalizácie Wnt. Vďaka svojim genetickým a fenotypovým vlastnostiam je vynikajúcou platformou na štúdium vzájomného pôsobenia medzi nedostatkom WT1 a aberantnými signálnymi dráhami, čo poskytuje pohľad na potenciálne terapeutické ciele pre tento agresívny typ nádoru.

Organism	Ľudské
Tissue	Obličky
Disease	Wilmsov nádor

Applications	Model bunkovej kultúry in vitro. Biochemické štúdie
---------------------	---

Charakteristika

Age	15 mesiacov
------------	-------------

Gender	Muži
---------------	------

Ethnicity	Kaukazský
------------------	-----------

Bunky Wilms6 | 300415**Morphology** Vreteno v tvare vretena**Cell type** Wilmsove bunky**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** Wilms6 (katalógové číslo Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Stav mutácie WT1: homozygotná c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, stav mutácie CTNNB1: homozygotná del TCT, p.DS45**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 Wilms6 | 300415**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 Wilms6 | 300415

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*: '02:05:01, '29:01:01

B*: '07:05:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '15:05:02

DRB1*: '07:01:01, '10:01:01

DQA1*: '01:05:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:01:01

DPB1*: '04:02:01, '17:01:01

E: '01:01:01