

Bunky Wilms2 | 300413**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia Wilms2 bola odvodená z primárneho Wilmsovho nádoru u detského pacienta so zárodočnou mutáciou WT1. Táto bunková línia je charakterizovaná homozygotnou nezmyselnou mutáciou v géne WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), ktorá vedie k produkcii skráteneho, nefunkčného proteínu WT1. Strata funkčného WT1, génu nevyhnutného pre vývoj obličiek, je charakteristickým znakom určitých podtypov Wilmsovho nádoru, najmä tých, ktoré sú spojené s mezenchýmovou alebo stromálnou diferenciáciou. Bunková línia Wilms2 je významným modelom na štúdium nádorových procesov spôsobených stratou WT1, najmä v kontexte Wilmsových nádorov, ktoré si zachovávajú iné kritické genetické vlastnosti.

Bunky Wilms2 nesú aj mutácie v géne CTNNB1, ktorý kóduje β -katenín, kľúčovú zložku signálnej dráhy Wnt. Tieto mutácie, konkrétne postihujúce serín 45, vedú k stabilizácii a akumulácii β -Cateninu, čo vedie ku konštitutívnej aktivácii Wnt dráhy. Táto aktivácia je známym hnacím motorom bunkovej proliferácie a tumorigenézy Wilmsovho nádoru, vďaka čomu je Wilms2 cenným modelom na pochopenie toho, ako aberantná signalizácia Wnt prispieva k vzniku a progresii nádorov s mutáciami WT1.

Z fenotypového hľadiska vykazujú bunky Wilms2 mezenchýmovú morfológiu, exprimujú vimentín a chýbajú im epitelové markery, ako napríklad cytokeratín. To zodpovedá stromálnym charakteristikám nádoru a zdôrazňuje úlohu WT1 pri regulácii mezenchymálno-epitelových prechodov počas vývoja obličiek. Proteomické analýzy Wilms2 identifikovali aktiváciu niekoľkých receptorových tyrozínkináz (RTK) vrátane PDGFR β a AXL, o ktorých je známe, že podporujú prežívanie a proliferáciu nádorových buniek. Okrem toho sú aktivované aj nadväzujúce dráhy, ako napríklad MAPK a PI3K/AKT, čo ďalej prispieva k malígnym vlastnostiam buniek Wilms2.

Celkovo slúži bunková línia Wilms2 ako základný nástroj na skúmanie molekulárnych mechanizmov Wilmsovho nádoru spôsobeného stratou WT1 a aberantnou signalizáciou Wnt. Jej genetické a fenotypové charakteristiky poskytujú spoľahlivú platformu na skúmanie potenciálnych terapeutických cieľov a na pochopenie úlohy kľúčových signálnych dráh v patológii Wilmsových nádorov s mezenchymálnou zložkou.

Organism Ľudské**Tissue** Obličky**Disease** Wilmsov nádor**Applications** Model bunkovej kultúry in vitro. Biochemické štúdie**Charakteristika****Age** 1 rok**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Vreteno v tvare vretena

Bunky Wilms2 | 300413**Cell type** Wilmsove bunky**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** Wilms2 (katalógové číslo Cytion 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SE**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Stav mutácie WT1: homozygotná c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, stav mutácie CTNNB1: heterozygotná del TCT>TAT, p.S45Y**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 Wilms2 | 300413

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 Wilms2 | 300413

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, '02:01:01
B*: '15:01:01, '57:01:01
C*: '03:03:01, '07:01:01
DRB1*: '04:01:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '03:03:02
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01, '01:03:02