

Wilms11 bunky | 300420

Všeobecné informácie

Description

Bunková línia Wilms11 bola odvodená z primárneho Wilmsovho nádoru (nefroblastómu) u detského pacienta. Na rozdiel od mnohých iných bunkových línií Wilmsovho nádoru sa Wilms11 vyznačuje prítomnosťou divokého typu WT1, čo znamená, že neobsahuje mutácie v géne WT1, ktoré sa zvyčajne spájajú s Wilmsovými nádormi vykazujúcimi agresívnejší alebo stromálny fenotyp. Nádor Wilms11 však vykazoval výraznú stromálnu diferenciáciu s veľkými oblasťami rabdomyomatóznej diferenciácie, čo svedčí o mezenchymálnych prvkoch v nádore. Prítomnosť divokého typu WT1 spolu so stromálnou diferenciáciou nádoru poskytuje jedinečný model na pochopenie biológie Wilmsovho nádoru v prípadoch, keď mutácie WT1 chýbajú.

Genetické štúdie Wilms11 ukázali, že táto bunková línia nesie nádorovo špecifickú mutáciu v CTNNB1, géne kódujúcom β -katenín, ktorý hrá kľúčovú úlohu v signálnej dráhe Wnt. V prípade Wilms11 táto mutácia ovplyvňuje serín 45, kľúčové fosforylačné miesto, ktoré sa podieľa na degradácii β -Cateninu. Mutácia CTNNB1 vedie k stabilizácii β -katenínu, čo vedie k jeho akumulácii a konštitutívnej aktivácii signálnej dráhy Wnt, ktorá je hnacou silou bunkovej proliferácie a tumorigenézy. Vďaka tomu je Wilms11 dôležitým modelom na štúdium vzájomného pôsobenia signalizácie Wnt a vývoja Wilmsovho nádoru, najmä v prípadoch, keď WT1 zostáva neporušený.

Proteomické analýzy Wilms11 odhalili aktiváciu niekoľkých receptorových tyrozínkináz (RTK) vrátane PDGFR β a AXL, ktoré sa podieľajú na riadení rastu a prežívania nádorových buniek. V bunkách Wilms11 sú aktivované aj naväzujúce signálne dráhy, ako napríklad MAPK a PI3K/AKT, čo prispieva k ich nádorovému správaniu. Schopnosť buniek Wilms11 podstupovať mezenchymovú diferenciáciu, najmä rabdomyomatóznú diferenciáciu, zdôrazňuje ich potenciál ako modelu na štúdium mezenchymových zložiek Wilmsovho nádoru. Celkovo slúži Wilms11 ako cenný nástroj na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré riadia Wilmsov tumorigenézu v neprítomnosti mutácií WT1, ale v kontexte aktivácie dráhy Wnt.

Organism Ľudské

Tissue Obličky

Disease Wilmsov nádor

Applications Model bunkovej kultúry in vitro. Biochemické štúdie

Charakteristika

Age 22 mesiacov

Gender Muži

Ethnicity Kaukazský

Morphology Vreteno v tvare vretena

Wilmsve11 bunky | 300420

Cell type Wilmsve bunky**Growth properties** Adherent

Regulačné údaje

Citation Wilms11 (katalógové číslo Cytion 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM

Biomolekulárne údaje

Mutational profile Stav mutácie WT1: homozygotný WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1 stav mutácie: 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 odstredíte 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.

Wilmsove11 bunky | 300420**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.

Wilmsove11 bunky | 300420

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.