

## Wilms10M rakud | 300418

## Üldine teave

## Description

Wilms10M rakuliin loodi Wilmsi kasvaja (nefroblastoom) patsiendi metastaatilise kopsukoldest. Sarnaselt oma primaarse tuumori vastandiga Wilms10T on Wilms10M rakuliinile iseloomulik WT1 geeni homosügootne deletsioon, mille tulemuseks on WT1 valgu täielik puudumine. WT1 on oluline normaalseks neeru arenguks ja selle deletsioon on seotud agressiivsema kasvajakäitumisega, eriti metastaatiliste kasvajat puhul. Lisaks sellele esineb Wilms10M rakkudes heterosügootia kadu (LOH) kromosoomi 11p15 piirkonnas, mis sisaldab IGF2 geeni, mis aitab veelgi kaasa nende rakkude pahaloolumulistele omadustele.

Wilms10M rakud säilitavad stabiilse karüotüübi, kus ei esine suuremaid kromosoomiümberrakendusi, välja arvatud WT1 piirkonna spetsiifiline deletsioon. See metastaatilise koost saadud rakuliin on eriti väärtuslik Wilmsi kasvaja metastaasi põhjustavate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. Rakkudel on mesenhüümilised omadused, mis väljendavad selliseid markereid nagu vimentiin, kuid neil puuduvad epiteeli markerid nagu tsütokeratiin, mis viitab nende päritolule kasvaja stromaalsest komponendist.

Wilms10M uuringutes on keskendunud signaaliradadele, mis on nendes metastaatilistes rakkudes aktiivsed. Proteoomilised analüüsid on näidanud mitmete retseptoritürosiini kinaaside (RTK), sealhulgas IGF1R, PDGFR $\beta$  ja AXL aktiveerimist, mis on seotud rakkude ellujäämise, proliferatsiooni ja metastaatilise potentsiaali edendamiseks. Aktiveeritud on ka allavoolu MAPK ja PI3K/AKT signaaliteed, mis mängivad olulist rolli Wilms10M rakkude invasiivse ja metastaatilise fenotüübi säilitamisel. Arvestades Wilms10M metastaatilist päritolu, on Wilms10M oluline mudel Wilmsi kasvaja metastaasi aluseks olevate molekulaarsete sündmuste mõistmiseks ja metastaatilise haiguse vastu suunatud ravistrateegiate väljatöötamiseks.

**Organism** Inimene

**Tissue** Neerud

**Disease** Wilmsi kasvaja

**Applications** In vitro rakukultuuri mudel. Biokeemilised uuringud

**Synonyms** Wilms10

## Omadused

**Age** 2 aastat

**Gender** Naised

**Ethnicity** Kaukaasia

**Morphology** Spindlikujuline

## Wilms10M rakud | 300418

**Cell type** Wilmsi rakud**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** Wilms10M (Cytioni katalooginumber 300418)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SL

## Biomolekulaarsed andmed

**Mutational profile** WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne del WT1 del11p13 piires. LOH: puudub 11p13-s, kuid UPD 11p15-s. CTNNB1 mutatsiooni staatus: homosügootne del TCT, p.DS45, UPD 3p

## Töötlemine

**Culture Medium** MSCGM komplekt (Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Wilms10M rakud | 300418****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## Wilms10M rakud | 300418

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.