

Wilms1 rakud | 300411

Üldine teave

Description

Wilms1 rakuliin on saadud Wilmsi primaarse kasvaja proovist, mis saadi patsiendilt, kellel esinesid suured kahepoolsed neerukasvajad, mis viitavad Wilmsi kasvajale, mis on pediatriline nefroblastoom. Selles rakuliinis on homosügootne nonsense-mutatsioon WT1 geenis (c.149 C>A, p.S50X), mille tulemuseks on kärbitud ja mittefunktsionaalne WT1 valk. WT1-geen, mis on neerude arengu ja funktsiooni jaoks kriitilise tähtsusega, on Wilmsi kasvajate puhul sageli muteerunud, eriti stromaalse alatüübiga kasvajate puhul, millel on ektoopiline mesenhüümiline diferentseerumine. Wilms1 rakud kujutavad seega ainulaadset in vitro mudelit WT1 funktsiooni kaotuse tagajärgede uurimiseks kasvajate bioloogias.

Wilms1 rakuliin säilitab stabiilse karyotüübi ilma oluliste kromosoomianomaaliateta, mis võimaldab usaldusväärset pikaajalist kasvatamist. Nendel rakkudel on mesenhüümiline fenotüüp, mida iseloomustab vimentiini ekspressioon ja epiteeli markerite, näiteks tsütokeratiini puudumine, mis on kooskõlas nende stromaalse päritoluga. Lisaks sellele on rakuliinil piiratud, kuid märkimisväärne mesenhüümiline diferentseerumisvõime, sealhulgas võime diferentseeruda sobivatel tingimustel lihasarnasteks rakkudeks. See muudab Wilms1 asendamatuks vahendiks mesenhüümilise diferentseerumise molekulaarsete mehhanismide ja selle dereguleerimise uurimiseks Wilmsi kasvaja patogeneesis.

Wilms1 on kasutatud ka tuumori progresseerumises osalevate peamiste signaaliradade aktiveerimise seisundi uurimiseks. Proteoomilised analüüsid on näidanud, et Wilms1 rakkudes esineb mitmete retseptoritürosiini kinaaside, sealhulgas EGFR ja PDGFR β , fosforüleerimine ja aktiveerimine, samuti allavoolu MAPK-signaaliradade aktiveerimine. Need leiud rõhutavad Wilms1 rakuliini olulisust Wilmsi kasvaja sihtotstarbeliste ravimeetodite uurimisel, uurides nende radade rolli vähirakkude ellujäämises, proliferatsioonis ja diferentseerumises.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Applications In vitro rakukultuuri mudel. Biokeemilised uuringud

Synonyms Wilms1-2l

Omadused

Age 2 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Spindlikujuline

Cell type Wilmsi rakud

Wilms1 rakud | 300411

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation Wilms1 (Cytioni katalooginumbriga 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Retseptoritürosiini kinaasid EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel. Moodustab Wilmsi kasvaja vastavate väikeste rakkudega kasvaja (ksenotransplantaadid ei pruugi täielikult esindada Wilmsi kasvajaid, vt E. Kuncz Stroup 2017)

Viruses HIV-1: negatiivne, HBV: negatiivne, HCV: negatiivne

Mutational profile WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatsiooni staatus: heterosügootne TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, normaalne

Töötlemine

Culture Medium MSCGM komplekt (Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 tundi

Wilms1 rakud | 300411

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.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 1 kuni 2 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Kiire

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.

Wilms1 rakud | 300411

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 rakuksuspensioon 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% 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.

Wilms1 rakud | 300411

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.

HLA alleles

A*: '03:01:01, '24:02:01

B*: '35:03:01, '38:01:01

C*: '12:03:01

DRB1*: '07:01:01, '14:54:01

DQA1*: '01:04:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:03:01

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

E: '01:03:01, '01:03:02