

## ImWilms10T rakud | 300419

## Üldine teave

## Description

ImWilms10T rakuliin on Wilms10T primaarse tuumori rakuliini immortaliseeritud variant, mis on saadud Wilmsi kasvaja (nefroblastoomi) proovist lastel. Seda rakuliini eristab WT1 geeni homosügootne deletsioon, mille tulemuseks on WT1 valgu funktsiooni täielik kadumine. WT1 on neerude arengu jaoks oluline geen ja selle deletsioon imWilms10T-s peegeldab tõsist geneetilist häiret, mis on seotud Wilmsi kasvaja patogeneesiga. Lisaks WT1 deletsioonile esineb imWilms10T rakkudes heterosügootsuse kadu (LOH) kromosoomi 11p15 piirkonnas, mis hõlmab selliseid olulisi geene nagu IGF2, mis aitavad kaasa kasvaja agressiivsele käitumisele.

Wilms10T rakkude piiratud eluea ületamiseks loodi imWilms10T rakuliin, viies algsetesse kasvajakudedesse sisse kolmekordse mutandi SV40 suure T antigeeni (U19dl89-97tsA58). See immortaliseerimisprotsess võimaldab imWilms10T rakkudel lõputult paljuneda, säilitades samal ajal kromosoomide stabiilsuse, pakkudes seega usaldusväärset mudelit pikaajalisteks uuringuteks. ImWilms10T rakud säilitavad vanemliku Wilms10T liini kriitilised omadused, sealhulgas WT1 täieliku kadumise ja LOH esinemise 11p15 juures, mis teeb neist hindamatu ressursi WT1 deletsiooni molekulaarsete tagajärgede ja sellega seotud kasvajakude protsesside uurimiseks.

ImWilms10T rakke on põhjalikult uuritud nende osalemise suhtes peamistes signaaliradades, mis juhivad kasvaja progresseerumist. Proteoomilised analüüsid on näidanud, et neis rakkudes on fosforüleeritud ja aktiveeritud mitmed retseptori türosiini kinaasid (RTK), nagu IGF1R, PDGFR $\beta$  ja AXL. Need aktiveeritud retseptorid annavad signaali allavoolu radade kaudu, sealhulgas MAPK ja PI3K/AKT radade kaudu, mis on rakkude pahaloomulise fenotüübi säilitamiseks üliolulised. ImWilms10T rakuliin on oluline vahend, et uurida WT1 täieliku kadumise mõju rakkude signaalimisele, kasvaja kasvule ja potentsiaalsetele terapeutilistele sihtmärkidele Wilmsi kasvaja puhul, eriti agressiivsemate kasvajakude alatüüpide puhul.

**Organism** Inimene

**Tissue** Neerud

**Disease** Wilmsi kasvaja

**Synonyms** ImWilms10 T, IM-WT-10

## Omadused

**Age** 2 aastat

**Gender** Naised

**Ethnicity** Kaukaasia

**Morphology** Spindlikujuline

**Cell type** Wilmsi rakud

## ImWilms10T rakud | 300419

**Growth properties** Kinnipeetav

**Regulatiivsed andmed**

**Citation** ImWilms10T (Cytioni katalooginumber 300419)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_DF34

**GMO Status** GMO-S1: See imWilms10T derivaat sisaldab sama kolmekordset mutantset SV40 T-antigeeni, mis võimaldab tingimuslikku immortaliseerimist pediaatrilise neerukasvaja bioloogias. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

**Biomolekulaarsed andmed**

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

**Töötlemine**

**Culture Medium** MSCGM komplekt (Lonza)

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel 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.

**Fluid renewal** 1 kuni 2 korda nädalas

**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.

**ImWilms10T rakud | 300419****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.

## ImWilms10T rakud | 300419

### 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\***: '01:01:01, '11:01:01  
**B\***: '18:01:01, '27:05:02  
**C\***: '01:02:01, '12:03:01  
**DRB1\***: '01:01:01, '11:04:01  
**DQA1\***: '01:01:01, '05:05:01  
**DQB1\***: '03:01:01, '05:01:01  
**DPB1\***: '04:01:01G, '04:02:01G  
**E**: '01:01:01