

## Wilms6 rakud | 300415

## Üldine teave

## Description

Wilms6 rakuliin loodi Wilmsi primaarsest kasvajast pediaatrilisel patsiendil, kellel oli WT1 mutatsioon. See rakuliin on määratletud homosügootse nonsense-mutatsiooniga WT1 geenis (c.1168 C>T, p.R390X), mille tulemuseks on kärbitud ja mittefunktsionaalne WT1 valk. WT1 on neerude arengu kriitiline regulaator ja selle kadumine on tugevalt seotud Wilmsi kasvajaga, eriti juhul, kui esineb mesenhüümiline diferentseerumine. Wilms6 rakuliin on oluline mudel WT1 täieliku kadumise tumorigeensete mõjude uurimiseks, eriti selliste kasvajate puhul, millel on nii epiteliaalsed kui ka mesenhüümilised omadused.

Wilms6 rakud kannavad ka mutatsiooni CTNNB1 geenis, mis mõjutab konkreetselt seriini 45 (p.S45F), mis on  $\beta$ -kateniini lagunemist reguleeriva fosforüleerimise võtmekoht. See mutatsioon viib  $\beta$ -kateniini stabiliseerumiseni ja tuuma akumulatsiooniseni, mille tulemuseks on Wnt-signaaltee konstitutiivne aktiveerumine. Wnt-signalisatsiooni kõrvalekalduv aktiveerimine on teadaolevalt Wilmsi kasvajate rakkude proliferatsiooni ja kasvajate tekke ajendiks, mistõttu Wilms6 on väärtuslik vahend WT1-mutatsiooniga kasvajate Wnt-tee düsregulatsiooni rolli uurimiseks.

Fenotüübiliselt on Wilms6 rakud mesenhüümilise morfoloogiaga, vimentini tugeva ekspressiooniga ja epiteeli markerite, nagu tsütokeratiini, puudumisega, mis peegeldab algse kasvaja stromaalset olemust. On näidatud, et neil rakkudel on piiratud, kuid märkimisväärne diferentseerumispotentsiaal, sealhulgas võime diferentseeruda eritingimustes lihasarnasteks rakkudeks, mis peegeldab mõnes Wilmsi kasvajas täheldatud mesenhüümset diferentseerumist. Wilmsi6 proteoomilised uuringud on tuvastanud mitmete retseptori türosiini kinaaside (RTK), sealhulgas PDGFR $\beta$  ja AXL aktiveerimise, mis on seotud rakkude ellujäämise, proliferatsiooni ja migratsiooni edendamiseks. Selliste signaaliradade nagu MAPK ja PI3K/AKT allavoolu aktiveerimine rõhutab veelgi selle rakuliini agressiivsust.

Üldiselt on Wilms6 rakuliin oluline mudel Wilmsi kasvajate arengu aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks, eriti juhul, kui WT1 on täielikult kadunud koos Wnt-signaali aktiveerimisega. Selle geneetilised ja fenotüüpilised omadused teevad sellest suurepärase platvormi WT1 puuduse ja kõrvalekalduvate signaaliradade vahelise koostoime uurimiseks, mis annab ülevaate selle agressiivse kasvajatüübi potentsiaalsetest terapeutilistest sihtmärkidest.

**Organism** Inimene

**Tissue** Neerud

**Disease** Wilmsi kasvaja

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

## Omadused

**Age** 15 kuud

**Gender** Mees

**Wilms6 rakud | 300415**

<b>Ethnicity</b>	Kaukaasia
<b>Morphology</b>	Spindlikujuline
<b>Cell type</b>	Wilmsi rakud
<b>Growth properties</b>	Kinnipeetav

**Regulatiivsed andmed**

<b>Citation</b>	Wilms6 (Cytioni katalooginumber 300415)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A5SI

**Biomolekulaarsed andmed**

<b>Mutational profile</b>	WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne c.1168C>T, p.R390x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatsiooni staatus: homosügootne del TCT, p.DS45
---------------------------	---

**Töötlemine**

<b>Culture Medium</b>	MSCGM komplekt (Lonza)
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Freeze medium</b>	Krüsäilitusvedelikusena 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.

## Wilms6 rakud | 300415

### 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.

## Wilms6 rakud | 300415

### 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\***: '02:05:01, '29:01:01

**B\***: '07:05:01, '13:02:01

**C\***: '06:02:01, '15:05:02

**DRB1\***: '07:01:01, '10:01:01

**DQA1\***: '01:05:01, '02:01:01

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

**DPB1\***: '04:02:01, '17:01:01

**E**: '01:01:01