

Wilms2 rakud | 300413

Üldine teave

Description

Wilms2 rakuliin on saadud Wilmsi primaarsest Wilmsi kasvajast, mis pärineb WT1 mutatsiooniga pediaatrilisest patsiendist. Seda rakuliini iseloomustab homosügootne nonsense-mutatsioon WT1 geenis (c.1084 C>T, p.R362X), mille tulemuseks on kärbitud, mittefunktsionaalne WT1 valk. Neeru arenguks olulise WT1 geeni funktsionaalsuse kadumine on Wilmsi kasvaja teatavate alatüüpide, eriti nende, mis on seotud mesenhüümilise või stromaalse diferentseerumisega, tunnusjooneks. Wilms2 rakuliin on oluline mudel WT1 kaotusest tingitud kasvajaliste protsesside uurimiseks, eriti selliste Wilmsi kasvajate kontekstis, mis säilitavad teisi kriitilisi geneetilisi omadusi.

Wilms2 rakud kannavad mutatsioone ka CTNNB1 geenis, mis kodeerib β -kateniini, Wnt-signaaltee põhikomponenti. Need mutatsioonid, mis mõjutavad konkreetset seriini 45, viivad β -kateniini stabiliseerumiseni ja akumuliseerumiseni, mille tulemuseks on Wnt-tee konstitutiivne aktiveerimine. See aktiveerumine on teadaolevalt Wilmsi kasvajate rakkude proliferatsiooni ja kasvajate tekke ajendiks, mistõttu Wilms2 on väärtuslik mudel, et mõista, kuidas WT1-mutatsioonidega kasvajate arengule ja progresseerumisele aitab kaasa Wnt-signalisatsiooni kõrvalekaldumine.

Wilms2 rakkude fenotüüp on mesenhüümilaadse morfoloogiaga, mis ekspresseerib vimentiini ja millel puuduvad epiteeli markerid, nagu tsütokeratiin. See on kooskõlas kasvaja stromaalsete omadustega ja rõhutab WT1 rolli mesenhüümi-epiteeli ülemineku reguleerimisel neeru arengu ajal. Wilms2 proteoomilised analüüsid on tuvastanud mitmete retseptori türosiini kinaaside (RTK), sealhulgas PDGFR β ja AXL aktiveerimise, mis teadaolevalt toetavad kasvajarakkude ellujäämist ja proliferatsiooni. Lisaks on aktiveeritud ka selliseid allavoolu radasid nagu MAPK ja PI3K/AKT, mis aitavad veelgi kaasa Wilms2 rakkude pahaloomuliste omadustele.

Kokkuvõttes on Wilms2 rakuliin oluline vahend Wilmsi kasvajate molekulaarmehhanismide uurimiseks, mis on tingitud WT1 kaotusest ja Wnt-signalisatsiooni kõrvalekalletest. Selle geneetilised ja fenotüüpilised omadused pakuvad tugevat platvormi võimalike terapeutiliste sihtmärkide uurimiseks ja peamiste signaaliradade rolli mõistmiseks mesenhüümilise komponendiga Wilmsi kasvajate patoloogias.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Disease Wilmsi kasvaja

Applications In vitro rakukultuuri mudel. Biokeemilised uuringud

Omadused

Age 1 aasta

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Wilms2 rakud | 300413**Morphology** Spindlikujuline**Cell type** Wilmsi rakud**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** Wilms2 (Cytioni katalooginumber 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SE**Biomolekulaarsed andmed****Mutational profile** WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatsiooni staatus: heterosügootne del TCT>TAT, p.S45Y**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 tsentrifugeerige 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.

Wilms2 rakud | 300413

**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% 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.

Wilms2 rakud | 300413

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, '02:01:01
B*: '15:01:01, '57:01:01
C*: '03:03:01, '07:01:01
DRB1*: '04:01:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '03:03:02
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01, '01:03:02