

## Wilms11 rakud | 300420

## Üldine teave

## Description

Wilms11 rakuliin on saadud pediaatrilise patsiendi primaarsest Wilmsi kasvajast (nefroblastoom). Erinevalt paljudest teistest Wilmsi kasvajate rakuliinidest on Wilms11-le iseloomulik, et selles esineb metsikut tüüpi WT1, mis tähendab, et selles ei esine mutatsioone WT1 geenis, mis tavaliselt on seotud Wilmsi kasvajatega, millel on agressiivsem või stromaalsem fenotüüp. Wilms11 kasvaja oli siiski märkimisväärne stromaalne diferentseerumine koos suurte randomüoomilise diferentseerumise aladega, mis viitab mesenhüümsetele elementidele kasvajas. Metsikut tüüpi WT1 esinemine koos kasvaja stromaalse diferentseerumisega annab ainulaadse mudeli Wilmsi kasvaja bioloogia mõistmiseks juhtudel, kus WT1 mutatsioonid puuduvad.

Wilms11 geneetilised uuringud on näidanud, et sellel rakuliinil on kasvaja-spetsiifiline mutatsioon CTNNB1-s, mis kodeerib  $\beta$ -kateniini, millel on oluline roll Wnt-signaalteedis. Wilms11 puhul mõjutab see mutatsioon seriini 45, mis on  $\beta$ -kateniini lagundamises osalev oluline fosforüleerimiskoht. CTNNB1 mutatsiooni tulemuseks on  $\beta$ -kateniini stabiliseerumine, mis põhjustab selle akumulereerumist ja Wnt-signaalse konstitutiivset aktiveerimist, mis on rakkude proliferatsiooni ja kasvajate tekke mootoriks. See muudab Wilms11 oluliseks mudeliks Wnt-signalisatsiooni ja Wilmsi kasvaja arengu vastastikuse mõju uurimiseks, eriti juhtudel, kui WT1 jääb puutumata.

Wilms11 proteoomilised analüüsid on näidanud mitme retseptoritürosiini kinaasi (RTK), sealhulgas PDGFR $\beta$  ja AXL, aktiveerimist, mis on seotud kasvajakasvu ja ellujäämise juhtimisega. Wilms11 rakkudes on aktiveeritud ka allavoolu signaaliradasid, nagu MAPK ja PI3K/AKT, mis aitavad kaasa nende kasvajakäitumisele. Wilms11 rakkude võime läbida mesenhüümset diferentseerumist, eriti randomüoomset diferentseerumist, rõhutab nende potentsiaali Wilmsi kasvaja mesenhüümiliste komponentide uurimise mudelina. Kokkuvõttes on Wilms11 väärtuslik vahend Wilmsi kasvajate teket juhtivate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks WT1-mutatsioonide puudumisel, kuid Wnt-tee aktiveerimise kontekstis.

**Organism** Inimene

**Tissue** Neerud

**Disease** Wilmsi kasvaja

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

## Omadused

**Age** 22 kuud

**Gender** Mees

**Ethnicity** Kaukaasia

**Morphology** Spindlikujuline

**Cell type** Wilmsi rakud

## Wilms11 rakud | 300420

**Growth properties** Kinnipeetav

**Regulatiivsed andmed**

**Citation** Wilms11 (Cytioni katalooginumber 300420)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SM

**Biomolekulaarsed andmed**

**Mutational profile** WT1 mutatsiooni staatus: homosügootne WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1 mutatsiooni staatus: metsikut tüüpi

**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 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.

## Wilms11 rakud | 300420

### 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.

## Wilms11 rakud | 300420

### 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.