

## ImWilms10T-celler | 300419

## General information

## Description

ImWilms10T-cellelinjen er en udødeliggjort variant af den primære Wilms10T-tumorcellelinje, som stammer fra en Wilms-tumorprøve (nefroblastom) fra en pædiatrisk patient. Denne cellelinje er kendetegnet ved en homozygot deletion af WT1-genet, hvilket resulterer i et fuldstændigt tab af WT1-proteinfunktion. WT1 er et afgørende gen for nyreudvikling, og dets deletion i imWilms10T afspejler en alvorlig genetisk forstyrrelse, der er forbundet med patogenesen af Wilms-tumor. Ud over WT1-deletionen udviser imWilms10T-celler tab af heterozygoti (LOH) i 11p15-kromosomområdet, som omfatter nøglegener som IGF2, der bidrager til tumorens aggressive adfærd.

For at overvinde Wilms10T-cellernes begrænsede levetid blev imWilms10T-cellelinjen etableret ved at indføre et tredobbelt muteret SV40 large T-antigen (U19dl89-97tsA58) i de oprindelige tumorceller. Denne udødelighedsproces gør det muligt for imWilms10T-celler at formere sig på ubestemt tid og samtidig bevare kromosomstabiliteten, hvilket giver en pålidelig model til langtidsstudier. ImWilms10T-cellerne bevarer de kritiske egenskaber ved Wilms10T-forældrelinjen, herunder det fuldstændige tab af WT1 og tilstedeværelsen af LOH på 11p15, hvilket gør dem til en uvurderlig ressource til undersøgelse af de molekylære konsekvenser af WT1-deletion og de tilknyttede tumorigeniske processer.

imWilms10T-celler er blevet grundigt undersøgt for deres involvering i vigtige signalveje, der driver tumorprogression. Proteomiske analyser har afsløret, at disse celler udviser fosforylering og aktivering af flere receptortyrosinkinaser (RTK'er), såsom IGF1R, PDGFR $\beta$  og AXL. Disse aktiverede receptorer signalerer gennem downstream-veje, herunder MAPK- og PI3K/AKT-vejene, som er afgørende for at opretholde cellernes maligne fænotype. Cellelinjen imWilms10T er et vigtigt redskab til at undersøge virkningen af et fuldstændigt tab af WT1 på cellulær signalering, tumorvækst og potentielle terapeutiske mål i Wilms-tumor, især for mere aggressive tumorundertyper.

<b>Organism</b>	Menneske
<b>Tissue</b>	Nyre
<b>Disease</b>	Wilms-tumor
<b>Synonyms</b>	ImWilms10 T, IM-WT-10

## Karakteristika

<b>Age</b>	2 år
<b>Gender</b>	Kvinde
<b>Ethnicity</b>	Kaukasisk
<b>Morphology</b>	Spindelformet

## ImWilms10T-celler | 300419

**Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** ImWilms10T (Cytion katalognummer 300419)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_DF34**GMO Status** GMO-S1: Dette imWilms10T-derivat indeholder det samme triple-mutante SV40 T-antigen, der muliggør betinget immortalisering til pædiatrisk nyretumorbiologi. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Mutational profile** WT1-mutationsstatus: homozygot del WT1 inden for del11p13, LOH: ingen i 11p13, men UPD i 11p15, CTNNB1-mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45, UPD 3p**Håndtering****Culture Medium** MSCGM-kit (fra Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Fluid renewal** 1 til 2 gange om ugen

## ImWilms10T-celler | 300419

### Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## ImWilms10T-celler | 300419

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

### HLA-alleler

**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