

**ImWilms10T Cellen | 300419****Algemene informatie****Description**

De imWilms10T cellijn is een geïmmortaliseerde variant van de Wilms10T primaire tumorcellijn, die is afgeleid van een Wilms tumor (nefroblastoom) van een pediatrische patiënt. Deze cellijn onderscheidt zich door een homozygote deletie van het WT1-gen, wat resulteert in een volledig verlies van de WT1-eiwitfunctie. WT1 is een cruciaal gen voor de ontwikkeling van de nieren en de deletie ervan in imWilms10T weerspiegelt een ernstige genetische verstoring die geassocieerd wordt met de pathogenese van Wilms tumor. Naast de WT1-deletie vertonen imWilms10T cellen verlies van heterozygositeit (LOH) in het 11p15 chromosomale gebied, dat belangrijke genen zoals IGF2 bevat, wat bijdraagt aan het agressieve gedrag van de tumor.

Om de beperkte levensduur van de Wilms10T-cellen te overwinnen, werd de imWilms10T-cellijn gemaakt door een drievoudig gemuteerd SV40-groot T-antigeen (U19dl89-97tsA58) in de oorspronkelijke tumorcellen te introduceren. Dit immortalisatieproces stelt imWilms10T cellen in staat om zich onbeperkt te vermenigvuldigen met behoud van chromosomale stabiliteit, waardoor een betrouwbaar model ontstaat voor langetermijnstudies. De imWilms10T cellen behouden de kritische eigenschappen van de ouderlijke Wilms10T lijn, inclusief het volledige verlies van WT1 en de aanwezigheid van LOH op 11p15, waardoor ze van onschatbare waarde zijn voor het bestuderen van de moleculaire gevolgen van WT1 deletie en de bijbehorende tumorigene processen.

imWilms10T cellen zijn uitgebreid bestudeerd op hun betrokkenheid bij belangrijke signaalwegen die tumorgroei stimuleren. Proteomische analyses hebben aangetoond dat deze cellen fosforylering en activatie van verschillende receptor tyrosine kinases (RTK's) vertonen, zoals IGF1R, PDGFR $\beta$  en AXL. Deze geactiveerde receptoren geven signalen af via downstream pathways, waaronder de MAPK en PI3K/AKT pathways, die cruciaal zijn voor het in stand houden van het kwaadaardige fenotype van de cellen. De imWilms10T cellijn dient als een belangrijk instrument voor het onderzoeken van de invloed van volledig WT1 verlies op cellulaire signalering, tumorgroei en potentiële therapeutische doelen in Wilms tumor, met name voor meer agressieve tumor subtypes.

**Organism**

Mens

**Tissue**

Nieren

**Disease**

Wilms tumor

**Synonyms**

ImWilms10 T, IM-WT-10

**Kenmerken****Age**

2 jaar

**Gender**

Vrouw

**Ethnicity**

Kaukasisch

## ImWilms10T Cellen | 300419

**Morphology** Spilvormig

**Cell type** Wilms cellen

**Growth properties** Aanhangend

## Regelgevende gegevens

**Citation** ImWilms10T (Cytion catalogusnummer 300419)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_DF34

**Depositor** B. Royer-Pokora

**GMO Status** GMO-S1: Dit imWilms10T derivaat bevat hetzelfde triple-mutant SV40 T-antigen dat voorwaardelijke immortalisatie mogelijk maakt voor de biologie van pediatrische niertumoren. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

## Biomoleculaire gegevens

**Mutational profile** WT1 mutatiestatus: homozygoot del WT1 binnen del11p13, LOH: geen in 11p13 maar UPD in 11p15, CTNNB1 mutatiestatus: homozygoot del TCT, p.DS45, UPD 3p

## Omgaan met

**Culture Medium** MSCGM-kit (van Lonza)

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

## ImWilms10T Cellen | 300419

**Fluid renewal** 1 tot 2 keer per week

### Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

## ImWilms10T Cellen | 300419

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

### STR profiel

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 12,12  
**D16S539:** 9,10  
**D5S818:** 10,12  
**D7S820:** 11,12  
**TH01:** 8,6  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 15,18  
**D3S1358:** 17,17  
**D21S11:** 29,30  
**D18S51:** 14,16  
**Penta E:** 7,10  
**Penta D:** 10,13  
**D8S1179:** 10,15  
**FGA:** 22,24

**ImWilms10T Cellen | 300419**

**HLA-allelen**

- 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