

## Wilms10T-cellen | 300417

## Algemene informatie

## Description

De Wilms10T-celijn is afgeleid van een primair Wilms-tumormonster van een patiënt met Wilms-tumor, een pediatrisch nefroblastoom. Deze celijn wordt gekenmerkt door een homozygote deletie van het WT1-gen, wat leidt tot een volledig verlies van de WT1-functie, een cruciaal gen dat betrokken is bij de ontwikkeling van de nieren en het behoud van een normale nierdifferentiatie. In tegenstelling tot veel andere Wilms-tumorcellijnen, ontbreekt in Wilms10T elke expressie van WT1-eiwit, wat een weerspiegeling is van de ernstige genetische veranderingen die in dit tumorsubtype aanwezig zijn. Daarnaast vertoont de Wilms10T celijn verlies van heterozygositeit (LOH) in het 11p15 chromosomale gebied, dat belangrijke genen zoals IGF2 bevat, wat verder bijdraagt aan de tumorigene eigenschappen.

Wilms10T-cellen hebben een stabiel normaal karyotype zonder belangrijke chromosoomherschikkingen, afgezien van de specifieke deletie van de WT1-regio. Deze celijn is uitgebreid gebruikt om de effecten van volledig WT1 verlies op de tumorbiologie te bestuderen, inclusief de invloed op celproliferatie, differentiatie en respons op verschillende signaalwegen. De cellen hebben mesenchymale kenmerken en brengen markers zoals vimentine tot expressie, terwijl epitheliale markers zoals cytokeratine ontbreken, wat duidt op hun stromale oorsprong.

Er is veel onderzoek gedaan naar de signaalroutes die actief zijn in Wilms10T cellen. Proteomische studies hebben aangetoond dat deze cellen verschillende receptor tyrosine kinases (RTK's) activeren, zoals IGF1R, PDGFR $\beta$  en AXL, waarvan bekend is dat ze tumorigenese stimuleren. Daarnaast worden downstream signaalroutes, waaronder de MAPK en PI3K/AKT routes, geactiveerd in Wilms10T cellen, wat bijdraagt aan hun agressieve tumorfenotype. De uitgebreide karakterisatie van Wilms10T maakt het een waardevol model voor het onderzoeken van de moleculaire onderbouwing van Wilms tumor met volledig WT1 verlies, evenals voor het verkennen van potentiële therapeutische doelwitten in dit agressieve tumor subtype.

**Organism** Mens

**Tissue** Nieren

**Disease** Wilms tumor

**Applications** In vitro celkweekmodel en biochemische studies

**Synonyms** Wilms10

## Kenmerken

**Age** 2 jaar

**Gender** Vrouw

**Ethnicity** Kaukasisch

## Wilms10T-cellen | 300417

**Morphology** Spilvormig

**Cell type** Wilms cellen

**Growth properties** Aanhangend

## Regelgevende gegevens

**Citation** Wilms10T (Cytion catalogusnummer 300417)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SL

**Depositor** B. Royer-Pokora

## 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

**Doubling time** 46 uur

**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 centrifugereren 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.

## Wilms10T-cellen | 300417

**Seeding density**  $4 \times 10^4$  c<sup>ellen</sup>/cm<sup>2</sup>

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

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (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 cryoflacoen 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% CO<sub>2</sub>, bevochtigde atmosfeer.

**Flask Coating** Geen

## Wilms10T-cellen | 300417

### 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,y  
**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

**Wilms10T-cellen | 300417**

**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