

## Células ImWilms10T | 300419

### Informações gerais

#### Description

A linha de células imWilms10T é uma variante imortalizada da linha de células tumorais primárias Wilms10T, que foi derivada de uma amostra de tumor de Wilms (nefroblastoma) de um doente pediátrico. Esta linha celular distingue-se por uma deleção homozigótica do gene WT1, resultando numa perda completa da função da proteína WT1. O WT1 é um gene crucial para o desenvolvimento dos rins e a sua deleção no imWilms10T reflecte uma perturbação genética grave que está associada à patogénese do tumor de Wilms. Para além da deleção do WT1, as células imWilms10T apresentam perda de heterozigotia (LOH) na região cromossómica 11p15, que inclui genes chave como o IGF2, contribuindo para o comportamento agressivo do tumor.

Para ultrapassar o tempo de vida limitado das células Wilms10T, foi criada a linha celular imWilms10T através da introdução de um antigénio SV40 large T triplamente mutante (U19dl89-97tsA58) nas células tumorais originais. Este processo de imortalização permite que as células imWilms10T proliferem indefinidamente, mantendo a estabilidade cromossómica, proporcionando assim um modelo fiável para estudos a longo prazo. As células imWilms10T mantêm as características críticas da linha Wilms10T parental, incluindo a perda completa de WT1 e a presença de LOH em 11p15, o que as torna um recurso inestimável para o estudo das consequências moleculares da deleção de WT1 e dos processos tumorigénicos associados.

As células imWilms10T têm sido amplamente estudadas quanto ao seu envolvimento em vias de sinalização fundamentais que conduzem à progressão tumoral. As análises proteómicas revelaram que estas células apresentam fosforilação e ativação de vários receptores tirosina-quinases (RTKs), tais como IGF1R, PDGFRβ e AXL. Estes receptores activados sinalizam através de vias a jusante, incluindo as vias MAPK e PI3K/AKT, que são cruciais para manter o fenótipo maligno das células. A linha celular imWilms10T serve como uma ferramenta importante para investigar o impacto da perda completa de WT1 na sinalização celular, crescimento tumoral e potenciais alvos terapêuticos no tumor de Wilms, particularmente para subtipos tumorais mais agressivos.

**Organism** Humano

**Tissue** Rim

**Disease** Tumor de Wilms

**Synonyms** ImWilms10 T, IM-WT-10

### Caraterísticas

**Age** 2 anos

**Gender** Feminino

**Ethnicity** Caucasiano

**Morphology** Em forma de fuso

## Células ImWilms10T | 300419

**Cell type** Células de Wilms

**Growth properties** Aderente

### Dados regulamentares

**Citation** ImWilms10T (número de catálogo Cytion 300419)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_DF34

**GMO Status** GMO-S1: Este derivado imWilms10T contém o mesmo antígeno SV40 T triplamente mutante que permite a imortalização condicional para a biologia de tumores renais pediátricos. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

### Dados biomoleculares

**Mutational profile** Estado da mutação WT1: homocigótico del WT1 dentro de del11p13, LOH: não em 11p13 mas UPD em 11p15, Estado da mutação CTNNB1: homocigótico del TCT, p.DS45, UPD 3p

### Manuseamento

**Culture Medium** Kit MSCGM (da Lonza)

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

**Fluid renewal** 1 a 2 vezes por semana

## Células ImWilms10T | 300419

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

## Células ImWilms10T | 300419

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

### Alelos HLA

**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